

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ALEXANDRE DE FARIA LIMA

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS EM
DIFERENTES PARTES DO CULTIVO DA SOJA: SOLO, FERTILIZANTE, TECIDO FOLIAR,
FARELO E ÓLEO.

UBERLÂNDIA, MG

2016

ALEXANDRE DE FARIA LIMA

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS EM
DIFERENTES PARTES DO CULTIVO DA SOJA: SOLO, FERTILIZANTE, TECIDO FOLIAR,
FARELO E ÓLEO.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Química da Universidade Federal de Uberlândia,
como requisito parcial para obtenção do título de
doutor em Química.

Área de Concentração: Química Analítica
Linha de Pesquisa: Espectroanalítica Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

UBERLÂNDIA, MG

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

L732d Lima, Alexandre de Faria, 1984-
2016 Desenvolvimento de métodos para a determinação de metais em

diferentes partes do cultivo da soja: solo, fertilizante, tecido foliar, farelo
e óleo / Alexandre de Faria Lima. - 2016.

115 f. : il.

Orientador: Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa
de Pós-Graduação em Química.

Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Soja - Teses. 3. Adubos e fertilizantes - Teses.
4. Química analítica - Teses. I. Abarza Muñoz, Rodrigo Alejandro. II.
Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em
Química. III. Título.



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 40/PPQUI.

DATA: 31/03/2016

DISCENTE: Alexandre de Faria Lima

MATRÍCULA: 11212QMI001

TÍTULO DO TRABALHO: Desenvolvimento de métodos para a determinação de metais em diferentes partes do cultivo da soja: solo, fertilizante, tecido foliar, farelo e óleo.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de sensores eletroquímicos e métodos analíticos nas áreas de energia e meio-ambiente.

Às quatorze horas do dia trinta e um de março do ano dois mil e dezesseis, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Bloco 5I, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Clésia Cristina Nascentes, da Universidade Federal de Minas Gerais, Vanessa Nunes Alves, da Universidade Federal de Goiás, Sidnei Gonçalves da Silva e Edmar Isaías de Melo, do Instituto de Química da UFU e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, 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) candidata(o). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será montados.

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 60 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 18 horas e 30 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Clésia Cristina Nascentes
Profª Dra. Clésia Cristina Nascentes – UFMG

Sidnei Gonçalves

Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva – IQUFU

Vanessa Nunes Alves
Profª Dra. Vanessa Nunes Alves - UFG

Edmar Isaías de Melo
Prof. Dr. Edmar Isaías de Melo – IQUFU

Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz
Professor(a) Orientador(a): Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz – IQUFU

AGRADECIMENTOS

Sempre desejamos muito e agradecemos pouco. O desejo pode ser embasado na necessidade abstrata de algo, não obstante, a gratidão é o verbo concreto das maravilhas presentes em nossa vida.

Agradeço primeiramente a Deus por cada segundo da minha abençoada vida. Sempre nos momentos de dificuldades me recolhi as minhas orações, que me deram força e sabedoria para continuar a jornada sem fraquejar frente às barreiras que vida nos impõe. Sou uma pessoa feliz e realizada em todos os aspectos, com a graça de Deus.

A minha esposa Fernanda Ferraz Lima e meu filho Pedro Antônio da Silva Lima, pelo carinho, amor incondicional, compreensão nos momentos de ausência e apoio moral em todos os projetos executados.

Aos meus pais, Antonio Pádua de Lima e Maria Romilda de Faria Lima, pelos conselhos, orientações e formação, acima de tudo pelo amor e carinho com o qual sempre me trataram. Tudo o que conquistei até hoje é mérito deles. Simplesmente sem eles, eu nem existiria, então assim, agradeço ainda pelo Dom da vida que vocês me deram como maior presente.

Aos meus irmãos Fernando de Faria Lima e Gabriela de Faria Lima, pelo amor contínuo e gratuito, por me apoiar e auxiliar nos meus trabalhos de pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz por me proporcionar um dos maiores valores de um ser humano, o conhecimento. Sua paciência, discernimento e humildade são qualidades imensuráveis, que pretendo carregar para minha vida pessoal e profissional.

Aos meus sogros, Enesilda Souza Ferraz e Hélio Correa Ferraz, que sempre acreditaram em meu potencial e por confiar a mim o seu bem mais precioso.

Ao amigo Eduardo Almeida, pela participação efetiva neste trabalho, pois se absteve de seus momentos de tranquilidade para me ensinar e auxiliar nas técnicas de análises voltamétricas.

Gostaria de agradecer aos meus amigos, Prof. Deusmaque Carneiro Ferreira, Prof. David Maikel Fernandes, Prof. Marcos César de Oliveira e Prof. Thiago Tormin que me auxiliaram diretamente na execução dos meus trabalhos.

Ao Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter, pelos conhecimentos e trocas de experiências compartilhadas.

Aos meus amigos da equipe de Jiu Jitsu IFC, em especial, Marcelo Almeida Chaves, que sempre me apoiou e me incentivou com os meus trabalhos. Agradecer ainda, ao Sensei Adolfo José Ganzarolli de Melo Porfírio e ao Sensei Rafael Campos da Fonseca Pinheiro, pelos ensinamentos e valores que ajudaram a me tornar um ser humano melhor.

A todos os demais amigos e companheiros de estudos que me auxiliaram, direta ou indiretamente para execução do meu trabalho, ou pela simples convivência diária que tornou melhor os momentos da minha vida.

RESUMO

A soja é uma das principais oleaginosas cultivadas em todo mundo e a mesma possui a capacidade em absorver íons metálicos presentes no solo. Alguns desses metais podem ser classificados como não essenciais, tais como Pb, Cd, Cr e Hg, que por consequência, em determinadas situações são considerados tóxicos. Os elementos não essenciais pode representar um risco de contaminação ao meio ambiente, ou ainda, à saúde dos seres vivos, dependendo dos teores presentes nas diferentes partes da soja. Uma das principais rotas de aporte destes metais ao solo é pela aplicação de fertilizantes. Neste estudo foram determinados os teores Cu, Pb e Cd em diferentes partes das plantas de soja (tecido foliar, óleo e farelo desengordurado) cultivadas em solos contaminados com os respectivos metais. A determinação dos teores de metais nos materiais avaliados foi realizada empregando espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES). Os resultados indicaram que os teores de metais absorvidos pelas plantas dos diferentes vasos de estudo foram proporcionais aos teores disponíveis de Cu, Pb e Cd no solo. Verificou-se a presença de maiores teores de Cu no farelo desengordurado e no óleo de soja, enquanto que os maiores teores de Pb e Cd foram encontrados no tecido foliar. Outra parte da tese refere-se ao desenvolvimento de dois métodos de preparo de amostras de fertilizantes minerais, empregando banho de ultrassom, para determinação de metais. O primeiro deles voltado à determinação de Hg teve como condição otimizada, 150 mg de amostra tratada em 4mL de uma solução de HCl 30% ($v\ v^{-1}$) e sonicada por 5 min em banho ultrassônico. Nestas condições todos os resultados de recuperação foram superiores a 92 %, comparando-se duas técnicas instrumentais, CV AAS e MIP OES. O segundo método avaliado foi a extração simultânea de Cu, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr presente em amostras de fertilizantes minerais, empregando banho ultrassônico aliado a aquecimento. Os experimentos foram conduzidos com um banho ultrassônico acoplado a um banho termostatizado. O efeito das soluções de HNO_3 e HCl, ambas a 50% ($v\ v^{-1}$), foram avaliadas de forma univariada. As melhores eficiências de recuperação foram obtidas quando 150 mg de amostra foram tratadas com 4 mL de HCl 50% ($v\ v^{-1}$) e sonicada por 10 min em banho ultrassônico mantido a 85 °C. As eficiências de recuperação foram superiores a 99 %, com exceção apenas do Cd, que em nenhum dos ensaios realizados apresentou eficiência de recuperação superior a 50%. Portanto, o uso de banhos de ultrassom demonstrou-se como uma ferramenta adequada para o preparo de amostras de fertilizantes para a determinação de metais por métodos espectrométricos.

Palavras chave: Soja, Metais, Contaminantes, Fertilizantes, Banho Ultrassônico, MIP OES.

ABSTRACT

The soybean is one of the main oilseeds grown all over the world and it has the ability to absorb metallic ions in the soil. Some of these metals may be classified as non-essential, such as Pb, Cd, Cr, Hg, and that consequently, in certain situations are considered toxic. The non-essential elements may represent an environmental contamination risk, or even the health of living beings, depending on the levels present in different parts of soybeans. One of the main supply routes of these metals to the ground is by the application of fertilizers. In this study we determined the Cu, Pb and Cd in different parts of soybean plants (leaf tissue, oil and defatted meal) cultivated in soil contaminated with the respective metals. The determination of metal content in this material was applied using optical emission spectrometry in plasma induced by microwave (MIP OES). The results indicate that the metal content absorbed by plants of different study sites were proportional to the concentration of available Cu, Pb and Cd in the soil. It is the presence of higher Cu concentration in defatted bran and soybean oil, while the larger Pb and Cd contents were found in leaf tissue. The other part of the thesis refers to the development of two methods of sample preparation of mineral fertilizers employing ultrasonic bath for metal determination. The first one focused on Hg determination obtained as optimized conditions, 150mg of sample treated with 4 mL of a 30% HCl solution ($v\ v^{-1}$) and sonicated for 5 minutes in an ultrasonic bath. In these conditions all recovery results were higher than 92%, comparing two instrumental techniques, CV AAS and MIP OES. The second method evaluated the simultaneous extraction of Cu, Zn, Mn, Pb, Cd and Cr present in mineral fertilizer samples employing ultrasonic bath combined with heating. The experiments were conducted with the ultrasonic bath coupling in the thermostatic bath. The effect of HNO_3 and HCl solutions, both at 50% ($v\ v^{-1}$), were evaluated in a univariate mode. The best recovery efficiencies were obtained when 150 mg of sample was treated with 4 mL of 50% HCl ($v\ v^{-1}$) and sonicated for 10 minutes in an ultrasonic bath maintained at 85 °C. The recovery efficiencies were higher than 99%, except to Cd, in which none of the trials showed high recovery efficiency than 50%. Therefore, the use of ultrasonic baths was demonstrated as a feasible tool for the sample preparation of fertilizers for metal determination by spectrometric methods.

Key words: Soybean, Metals, Contaminants, Fertilizers, Ultrasonic Bath, MIP OES.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Planejamento experimental para extração acelerada de Cu, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr.

Quadro 2. Correlação da temperatura em função da alíquota a ser retirada na análise física.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Evolução da produção de soja em diferentes países
- Figura 2.** Dinâmica de formação da microbolha até sua implosão causada pelo efeito de cavitação.
- Figura 3.** Implosão de uma microbolha.
- Figura 4.** Dispositivos do espectrômetro de absorção atômica com chama.
- Figura 5.** Dispositivos espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.
- Figura 6.** Dispositivo de espectrômetro de emissão ótica com plasma induzido por micro-ondas.
- Figura 7.** Adaptação no MSIS com bomba peristáltica de 3 canais.
- Figura 8.** Banho termostatizado (A) acoplado no banho ultrassônico (B)
- Figura 9.** Preparo dos vasos para cultivo da soja
- Figura 10.** Plantio das sementes de soja.
- Figura 11.** Coleta de Amostra de Solos.
- Figura 12.** Amostra de tecido foliar desidratada e moída.
- Figura 13.** Coleta dos grãos de soja e extração do óleo
- Figura 14.** Amostras de Óleo de Soja.
- Figura 15.** Amostras de farelo de soja desengordurado e moído.
- Figura 16.** Sonda de coleta de fertilizante
- Figura 17.** Triângulo de classificação textural (Granulométrica) do solo
- Figura 18.** Vasos de estudo após 1 dia de adição de metais.
- Figura 19.** Vasos de estudo, após 3 dias de adição de metais.
- Figura 20.** Vasos de estudo após 1 semana de adição de metais.
- Figura 21.** Vasos de estudo após 20 dias de adição de metais.
- Figura 22.** Vasos de estudo após 70 dias do plantio.
- Figura 23.** Vasos de estudo após 95 dias do plantio.
- Figura 24.** Vasos de estudo após 95 dias do plantio.
- Figura 25.** Voltamograma de onda quadrada para a análise da amostra de óleo do vaso 1 (Controle), após adições sucessivas de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Pb e Cu.
- Figura 26.** Curva analítica para Pb (A) e Cu (B) da amostra de óleo do vaso 1 (Controle).
- Figura 27.** Voltamograma de onda quadrada para a análise da amostra de óleo do vaso 2 após adições sucessivas de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Pb e Cu
- Figura 28.** Curva analítica para Cd (A), Pb (B) e Cu (C) da amostra de óleo do vaso 2.
- Figura 29.** Voltamograma de onda quadrada para a análise da amostra de óleo vaso 3, após adições sucessivas de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Pb e Cu.
- Figura 30.** Curva analítica para Cd (A), Pb (B) e Cu (C) da amostra de óleo do vaso 3.
- Figura 31.** Voltamograma de onda quadrada para a análise da amostra de óleo vaso 4, após adições sucessivas de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd e Pb, adições sucessivas de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ Cu.

Figura 32. Curva analítica para Cd (A), Pb (B) e Cu (C) da amostra de óleo do vaso 4.

Figura 33. Eficiência de recuperação de metais em fertilizante (massa 150 mg) com 4 mL de HNO_3 50% ($v\ v^{-1}$) ($n=3$).

Figura 34. Eficiência de recuperação de metais em fertilizante (massa 150 mg) com 4 mL de HCl 50% ($v\ v^{-1}$) ($n=3$).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Teores médios de nutrientes exportados pelos grãos de soja.

Tabela 2. Condições Operacionais para a determinação dos metais por MIP OES.

Tabela 3. Condições Operacionais para a determinação de Hg por MIP OES.

Tabela 4. Condições Operacionais para a determinação de Hg por CV AAS.

Tabela 5. Massa de amostra de óleo calcinada para determinação de Cu, Pb e Cd.

Tabela 6. Configurações operacionais do µAutolab Tipo III, gerenciado pelo software GPES, para determinação de Cu, Pb e Cd.

Tabela 7. Resultados analíticos do estudo de fertilidade do solo empregado nos vasos.

Tabela 8. Parâmetros dos solos adequados para o cultivo de soja.

Tabela 9. Resultados de metais na amostra NPK (10.10.10 + Micros) empregando o método oficial. (n=3)

Tabela 10. Valores de LD e LQ, expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$, para análises de metais empregando solução extratora de DTPA e Mehlich-1, medidas por MIP OES (Agilent 4100 MP AES)

Tabela 11. Determinação de metais em amostra de solo empregando solução extratora de DTPA, antes do cultivo da soja (n=3).

Tabela 12. Determinação de metais em amostras de solos empregando solução extratora de DTPA, após cultivo da soja (n=3).

Tabela 13. Determinação de metais em amostras de solos empregando solução extratora de Mehlich-1, antes do cultivo da soja (n=3).

Tabela 14. Determinação de metais em amostras de solos empregando solução extratora de Mehlich-1, após cultivo da soja (n=3).

Tabela 15. Determinação de metais em amostras de tecido foliar empregando solução extratora de $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (3:1) (n=3).

Tabela 16. Determinação de metais em amostras de farelo de soja desengordurado empregando solução extratora de $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (3:1) (n=3).

Tabela 17. Determinação de metais, em amostras de óleo de soja, empregando decomposição de amostra em forno mufla. (n=3)

Tabela 18. Valores de referência na amostra de fertilizante 38b/2013 ANDA (n=12).

Tabela 19. Eficiência de recuperação de metais em fertilizante inorgânico (massa 150 mg) com 4 mL de HNO_3 50% ($v v^{-1}$) (n=3).

Tabela 20. Eficiência de Recuperação de metais em fertilizante inorgânico (massa 150 mg) com 4 mL de HCl 50% ($v v^{-1}$) (n=3).

Tabela 21. Eficiência de recuperação (em %) de metais empregando apenas aquecimento a 85 °C (n=3).

Tabela 22. Valores referência de Hg nas amostras de fertilizantes empregando o método oficial proposto pela ANDA (n=5).

Tabela 23. Eficiência percentual de recuperação Hg com massa fixada em 150 mg e tempo de sonicação em 5 minutos (n=3).

Tabela 24. Eficiência percentual de recuperação Hg para diferentes concentrações de HCl (n=3).

Tabela 25. Eficiência percentual de recuperação Hg para diferentes massas de amostra (n=3)

Tabela 26. Eficiência percentual de recuperação Hg para diferentes tempos de sonicação (n=3).

Tabela 27. Efeito de alguns interferentes na recuperação de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Hg (n=3).

Tabela 28. Resultado analítico de Hg em diferentes amostras de fertilizantes (n=5)

Tabela 29. Resultado analítico de Hg e eficiência de recuperação em extratos analisados em diferentes dias.

GLOSSÁRIO

ANDA – Agência Nacional para Difusão de Adubos

CTC – Capacidade de Troca Catiônica

DAP – *DiAmmonium Phosphate* (Fosfato Duplo de Amônio) – $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

FAAS – *Flame Atomic Absorption Spectrometry* (Espectrometria de absorção atômica com chama)

CV AAS – *Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry* (Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio)

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

HCL – *Hollow Cathode Lamp* (Lâmpada de Cártodo Oco)

MAP – *MonoAmmonium Phosphate* (Fosfato Mono-Amônio) – $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NPK – Nitrogênio, Fósforo e Potássio

SSP – *Simple Super Phosphate* (Fosfato Super Simples) - $\text{CaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} + \text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

TSP – *Triple Super Phosphate* (Fosfato Super Triplo) - $\text{CaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

DTPA – *Diethylene Triamine Pentaacetic Acid* (Ácido Dietilenotriamopentaacético)

EDTA – *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (Ácido Etilenodiaminotetraacético)

TEA – Trietanolamina

MSIS – *Multi-mode Sample Introduction System* (Sistema de introdução de amostras multi-modo)

TFSA – Terra Fina Seca ao Ar

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

SWASV – *Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry* (Voltametria redissolução anódica por onda quadrada)

SB – Soma de Bases

V% – Saturação de Bases

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1. Introdução	02
1.1 A soja	02
1.2 Fertilizantes e os elementos essenciais às plantas	04
1.2.1 Elementos não essenciais às plantas	05
1.3 Nutrientes essenciais ao cultivo de soja	06
1.4 Absorção de metais tóxicos pelas plantas de soja	07
1.5 Métodos para extração de metais em solos	10
1.6 Estratégias para o preparo de amostras	11
1.6.1 Preparo de amostra empregando energia ultrassônica	13
1.7 Técnicas instrumentais para determinação de metais	16
1.7.1 Espectrometria de Absorção Atômica	16
1.7.1.1 Espectrometria e Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio	18
1.7.2 Espectrometria de Emissão Atômica	19
1.7.2.1 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas	20
1.7.3 Técnicas eletroquímicas	22
1.7.3.1 Voltametria cíclica	22
1.7.3.2 Voltametria de redissolução catódica e anódica	23
1.7.3.3 Voltametria de Onda Quadrada (SWV)	24

CAPÍTULO 2

2. Objetivos	26
2.1 Objetivos Gerais	26
2.2 Objetivos Específicos	26

CAPÍTULO 3

3. Procedimento Experimental	28
3.1 Amostras	28
3.1.1 Amostra de solo	28
3.1.2 Amostra de tecido foliar	28
3.1.3 Amostras de óleo de soja e farelo desengordurado	28
3.1.4 Amostra de fertilizante mineral	29
3.2 Instrumentação	29
3.3 Soluções e Reagentes	34
3.4 Preparo dos vasos de estudo	34
3.5 Coleta e preparo das amostras de solos.	36
3.6 Coleta e preparo das amostras de tecidos foliares.	36
3.7 Coleta e preparo das amostras de óleo e farelos desengordurados.	37
3.8 Coleta e preparo da amostra de fertilizante mineral	38
3.9 Análise do solo	39
3.9.1 Análise granulométrica	39

3.9.2 Análise de pH e Acidez Potencial	40
3.9.3 Análise de Matéria Orgânica	40
3.9.4 Determinação de Cálcio, Magnésio, Potássio, Fósforo	41
3.9.4.1 Determinação do Teor de Cálcio, Magnésio e Potássio	41
3.9.4.2 Determinação do Teor de Fósforo	42
3.9.5 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio em amostras de solos	42
3.10 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio no Tecido Foliar e Farelo de Soja	43
3.11 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio no Óleo de Soja	43
3.12 Análise de fertilizantes minerais	44
3.12.1 Estudo de extração de Mercúrio em amostras de fertilizante mineral	44
3.12.1.1 Método oficial de preparo de amostra para determinação de mercúrio	45
3.12.1.2 Proposta de método para extração de mercúrio com energia ultrassônica	45
3.12.2 Método oficial de preparo de amostra para determinação de Cu, Zn, Mn, Pb, Cd, e Cr	45
3.12.3 Proposta de método para extração simultânea de metais empregando energia ultrassônica e aquecimento	46
CAPÍTULO 4	
4. Resultados e Discussões	48
4.1 Análises do solo	48
4.1.1 Análise de Fertilidade do solo	48
4.2 Determinação dos teores de Cu, Pb e Cd em amostra de fertilizante empregando o método oficial	50
4.3 Preparo dos vasos de estudo	51
4.4 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio em amostras de solo	55
4.5 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio no Tecido Foliar e Farelo de Soja	59
4.6 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio no Óleo de Soja	61
4.7 Análise de fertilizantes minerais	63
4.7.1 Extração simultânea de metais em amostras de fertilizantes minerais	63
4.7.1.1 Extração assistida por ultrassom	63
4.7.2 Determinação de mercúrio em amostras de fertilizantes minerais	66
4.7.2.1 Método oficial	66
4.7.2.2 Efeito das variáveis no pré-tratamento das amostras de fertilizantes	67
4.7.2.3 Solução extratora	67
4.7.2.4 Massa de amostra	68
4.7.2.5 Tempo de sonicação	69
4.7.2.6 Determinação de Hg em amostras de fertilizantes minerais	69
CAPÍTULO 5	
5. Considerações Finais	74
ANEXOS	77
REFERÊNCIAS	84
CURRÍCULO VITAE	99

CAPÍTULO 1

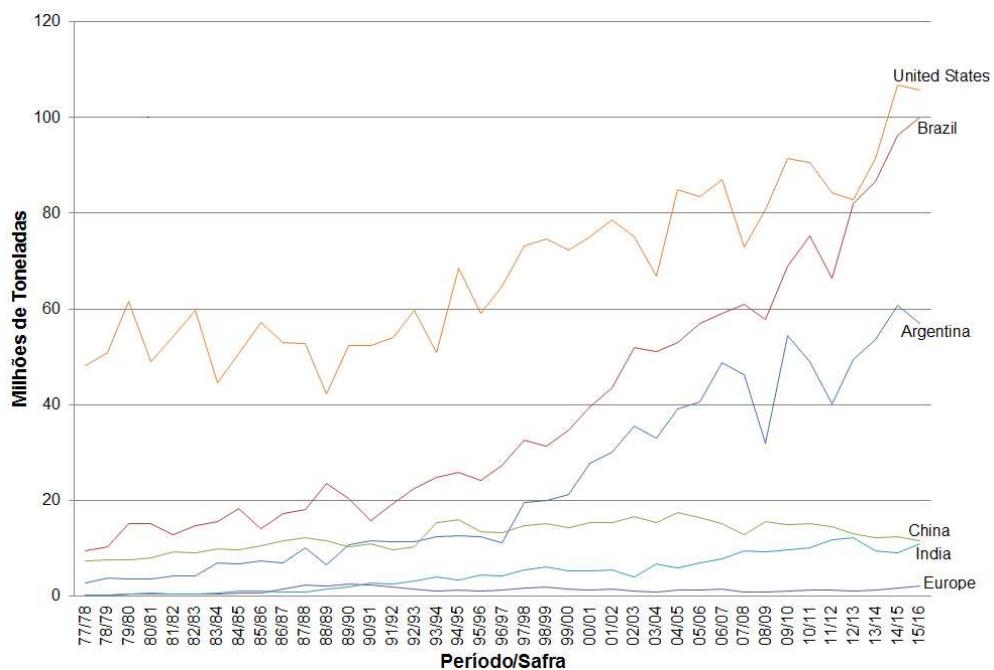
1. Introdução

1.1 A soja

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) cultivada em todo mundo apresenta relatos de cultivos a partir de 5.000 anos atrás no continente Asiático, com características muito diferentes das quais conhecemos atualmente. Relata-se que plantas oriundas de cruzamentos naturais, entre duas espécies de soja selvagem, resultou em formas domesticadas e melhoradas por cientistas da antiga China, na época da Dinastia Shang, por volta do século XI a.C., se tornando uma das principais fontes de alimentos juntamente com o trigo, o arroz, o centeio e o milheto [1, 2].

Ao redor de 1919, a oleaginosa começou a apresentar participação efetiva na produção mundial de grãos [3]. O primeiro cultivo de soja registrado no Brasil foi realizado em 1901 pela Estação Agropecuária de Campinas, fundada em 1887 pelo Imperador Dom Pedro II, atualmente conhecida como Instituto Agronômico de Campinas (IAC). Apenas em 1941 o cultivo de soja mereceu registro estatístico no Anuário Agrícola do Rio Grande do Sul, apresentando um rendimento de 700 kg ha^{-1} [4]. Porém, um aumento expressivo na produção de soja no Brasil aconteceu ao final da década de 70, conforme apresentado na Figura 1, a seguir.

Figura 1. Evolução da produção de soja em diferentes países



Fonte: PSD/USDA [5]. **Adaptação:** Autor

A oleaginosa é uma das principais matérias primas na fabricação de rações animais, além de estar inserida na crescente demanda de alimentação de seres humanos. As regiões do Centro Oeste e Sul do país são as principais produtoras do grão no Brasil [6].

A safra mundial de 2014/2015 foi de 318,9 milhões de toneladas, com os Estados Unidos apresentando uma produção total de 106,9 milhões de toneladas do grão, seguido pelo Brasil com uma produção de 96,2 milhões de toneladas [7, 8].

Mesmo em segundo lugar na produção mundial de soja, o Brasil apresenta condições climáticas e geográficas favoráveis para ocupar a liderança deste ranking, no entanto, a diversificação produtiva no setor agropecuário, impede que o país seja o principal produtor desta leguminosa. Isso, porém, não é uma condição desfavorável, pois o Brasil é reconhecido mundialmente, por sua participação ativa no segmento agropecuário mundial e participação significativa nas transações comerciais exportações de seus produtos.

Entre 35 e 45% de toda soja produzida no Brasil é processada internamente para obtenção exclusiva de seus derivados, como farelo e o óleo [9]. Aproximadamente 85% de toda a produção mundial de soja destinam-se à produção de óleo [2], e praticamente 80% de toda esta produção são destinadas ao setor alimentício [10]. Em média, 5% do resíduo gerado da produção do óleo (farelo e torta) são reprocessados para a produção de rações proteicas com fins alimentícios e nutricionais. A composição proteica da soja pode variar entre 35 a 40% e as gorduras entre 15 a 20% [2].

Além do setor alimentício, o óleo da soja é empregado ainda em vários outros segmentos industriais, destacando como o principal deles a produção de biodiesel. Cerca de 80% do conjunto de matérias-primas utilizadas na produção de biodiesel atualmente é composto pelo óleo de soja. Em maio de 2015, a produção das usinas brasileiras foi de 338,8 milhões de litros, do qual o óleo de soja correspondeu a 273,7 milhões de litros. Aproximadamente 1,31 milhão de toneladas de soja em grão foram esmagadas para a produção dessa quantidade de óleo [11].

O óleo de soja apresenta ainda várias outras aplicações, na indústria de cosméticos, farmacêutica, veterinária, na produção de ração animal, além das aplicações na produção de vernizes, tintas, plásticos, lubrificantes entre outros [12]. Poliuretanos à base de óleo de soja é a grande promessa de expansão industrial, com a aplicação em partes de automóveis e veículos como caminhões, trens e tratores, móveis, espumas densas e flexíveis, isolantes térmicos, gabinetes de TVs e monitores, solados de sapatos, materiais para barcos e produtos que flutuam, como as pranchas de surf [13].

Outro derivado da soja, que também desperta o interesse de diferentes segmentos industriais é o farelo, por apresentar altos teores de proteínas, em média 45% [1], por isso é amplamente utilizado como matéria prima para alimentação de rebanho de animais como bovinos, suínos, caprinos, aves, entre outros. Além de rações animais o farelo também é empregado na dieta alimentar de seres humanos, que buscam alimentos proteicos que não sejam carnes e derivados [10]. Em alguns casos as tortas e farelos de soja podem ser empregados como adubo orgânico e geração de energia.

Outras aplicações para o farelo de soja, não tão usuais, também estão sendo realizadas, como a produção de compensados, gabinetes de pia e cola de madeira. No passado, em meados da década de 40 o farelo de soja foi utilizado como matéria prima para

cola de papel laminado, adesivos para madeira e até na indústria têxtil, porém, o desenvolvimento de materiais sintéticos de baixo custo e derivados de petróleo, limitaram o uso do farelo de soja à alimentação animal [14].

1.2 Fertilizantes e os elementos essenciais às plantas

Para atender a demanda mundial por alimentos, o setor agrícola vem investindo ao longo de décadas em inovações tecnológicas e desenvolvimento de insumos que corroborem com o aumento da produtividade de lavouras. A aplicação destes insumos aos solos disponibilizam nutrientes essenciais ao crescimento das plantas. Dentre esses insumos, destacam-se principalmente os fertilizantes, conhecidos também como adubos [15].

Os fertilizantes são empregados incessantemente, com o intuito principal de aumentar a fertilidade do solo, refletindo consequentemente em maior eficiência da produção por área cultivada, uma vez empregado o manejo adequado do solo. Segundo o decreto nº 4.954, de 14 janeiro de 2004¹, com anexo a lei Nº 6.894 de 16 de dezembro de 1980, Art. 2º, alínea 'III', a definição técnica para fertilizantes é:

"Substância mineral ou orgânica, natural ou sintética, fornecedora de um ou mais nutrientes para plantas."

Os nutrientes, definido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como sendo elemento essencial ou benéfico para o crescimento e produção dos vegetais, podem ser classificados em três grupos. Os macronutrientes primários são constituídos por nitrogênio (N), fósforo expresso como pentóxido de fósforo (P_2O_5) e potássio expresso como óxido de potássio (K_2O). Os macronutrientes secundários são constituídos por cálcio expresso como Ca ou CaO, magnésio expresso como Mg ou MgO e enxofre (S). Por fim, os micronutrientes são constituídos por boro (B), cobre (Cu), zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobalto (Co), molibdênio (Mo), silício (Si) e cloro (Cl).

Os macronutrientes primários são essencialmente importantes no desempenho das funções vitais das plantas. O nitrogênio é um importante componente das proteínas e da clorofila, sendo primordial no aumento da produtividade agrícola. O fósforo é responsável pelo armazenamento e utilização de energia, promove o crescimento das raízes e a melhora da qualidade dos grãos, além de acelerar o amadurecimento dos frutos. O potássio é responsável pelo equilíbrio de cargas no interior das células vegetais, inclusive pelo controle da hidratação e das doenças da planta [16].

Os fertilizantes podem ser classificados conforme sua composição química e origem. As principais classes de fertilizantes, definidos segundo o MAPA são:

¹Está publicado no site da Presidência da República a legislação completa sobre fertilizantes, juntamente com as devidas instruções normativas, e pode ser acessado pelo link descrito a seguir:
http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2004/Decreto/D4954.htm

- Fertilizante mineral: Produto de natureza fundamentalmente mineral, natural ou sintético, obtido por processo físico, químico ou físico-químico;
- Fertilizante orgânico: Produto de natureza fundamentalmente orgânica, obtido por processo físico, químico, físico-químico ou bioquímico, natural ou controlado, a partir de matérias-primas de origem industrial, urbana ou rural, vegetal ou animal, enriquecido ou não de nutrientes minerais;
- Fertilizante organomineral: Produto resultante da mistura física ou combinação de fertilizantes minerais e orgânicos;
- Biofertilizante: Produto que contém princípio ativo ou agente orgânico isento de substâncias agrotóxicas, capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade, sem ter em conta o seu valor hormonal ou estimulante.

Os fertilizantes podem apresentar características físicas sólidas, na forma de pó, farelado ou granulado e líquidos, e podem ainda, ser aplicados diretamente ao solo, via foliar, ou por fertirrigação [15].

Atualmente, os fertilizantes de base mineral são os principais insumos empregados na agricultura. Estima-se que em 2014 o consumo de fertilizantes minerais em todo o território nacional foi de 32,2 milhões de toneladas, distribuídos em formulação do tipo NPK com mistura de grânulos, pó e fertilizantes simples [17, 18].

1.2.1 Elementos não essenciais às plantas

A classe de elementos considerados não essenciais podem causar efeitos deletérios a plantas, e ainda, a outros seres vivos que possam depender direta ou indiretamente do meio em que se encontram. Esses elementos não essenciais são comumente chamados de metais pesados, no entanto, não é um termo correto, visto que há muitos metais essenciais ao bom desenvolvimento das plantas e que ainda são considerados metais pesados, como é o caso de cobre, zinco e cobalto.

Admite-se que qualquer metal com densidade igual ou superior a 5 g cm^{-3} , é considerado metal pesado [19]. Assim sendo, o MAPA se refere aos metais pesados não essenciais às plantas como contaminantes.

Conforme Instrução Normativa 27 de 05 de junho de 2006¹, o MAPA reconhece como contaminantes dos solos de cultivo os elementos chumbo, cádmio, cromo, mercúrio, arsênio, selênio e níquel.

O monitoramento da concentração de contaminantes nos ecossistemas têm indicado concentrações elevadas desses elementos em áreas próximas a complexos industriais urbanos e também em áreas agricultáveis. A presença de contaminantes no solo é resultado, dentre

¹Está publicado no Sistema de Legislação Agrícola Federal, a devida instrução normativa, acessado pelo link a seguir: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16951>

outras ocorrências, de aplicação insumos agrícolas, tais como fertilizantes [20], corretivos, agrotóxicos [21], água de irrigação [22], resíduos orgânicos [23, 24] e inorgânicos [25], e podem sofrer lixiviação em áreas onde foram aplicadas altas doses destes resíduos [26], oferecendo assim condições prejudiciais ao ambiente e todas as formas de vida que dependem do mesmo.

A bioacessibilidade destes contaminantes para as plantas irá depender da espécie do metal, das propriedades do solo (pH, CTC e matéria orgânica), da concentração de metal e do tempo de incubação [27].

A hidróxi-apatita e a fluorapatita, convencionalmente chamada de rocha fosfática, são as principais matérias prima para produção de fertilizantes fosfatados e de ácido fosfórico. Estudos apontam que estes matérias carregam em sua composição mineralógica teores de cádmio, chumbo e urânio. Em muitos países, o cádmio foi identificado como um dos contaminantes mais tóxicos, atingindo a cadeia alimentar através de sua captação pelas culturas e indiretamente através da transferência para animais [28, 29].

Os minérios utilizados como matéria prima na produção de fertilizantes de caráter inorgânico podem carregar consigo os elementos considerados como contaminantes, pela simples ocorrência natural na formação mineralógica. Materiais de características orgânicas também podem apresentar contaminação por elementos tóxicos; os biossólidos, conhecido também como lodo de esgoto, são vistos como uma das principais fontes de acumulação de metais pesados tóxicos no solo [30].

Mesmo em solos com altos teores totais de elementos tóxicos, a absorção destes pelas plantas é, muitas vezes, pouco afetada, formando quelatos com ácidos húmicos e fúlvicos derivados da matéria orgânica presente no solo. Essa propriedade é variável nos inúmeros tipos de solo, sendo maior em solos mais ricos em oxi-hidróxidos de ferro e de alumínio e em matéria orgânica, e menor em solos arenosos, nos quais ocorrem maior lixiviação destes metais [31].

Assim sendo, os fertilizantes, em situações específicas, podem ser considerados contaminantes, por causarem desvios na composição normal do meio ambiente, quando fornecem quantidades variáveis de elementos traços de caráter tóxico [32].

1.3 Nutrientes essenciais ao cultivo de soja

Para o desenvolvimento adequado da soja, é importante que tenha disponível no solo teores adequados e bem equilibrados de todos os macronutrientes. O percentual de nutrientes presentes no solo e exportados para os grãos de soja, prioritariamente, são 84% de N, 87% de P, 56% de K, 15% de Ca, 22% de Mg e 65% de S. Tendo como referência a quantidade de nutrientes acumulados nas folhas e caules da planta, é possível estimar a absorção de nutrientes pela soja. Essa absorção é constante até que se atinja o ponto de máximo acúmulo, que acontece ao redor de 75 dias do plantio. Após esse período observa-se um decréscimo na acumulação, devido à transferência destes nutrientes para os grãos em formação [33]. A

Tabela 1 apresenta a quantidade média de nutrientes presentes no que são absorvidos pela cultura de soja.

Tabela 1. Teores médios de nutrientes exportados pelos grãos de soja.

N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cl	Mo	Fe	Mn	Zn	Cu
----- g kg ⁻¹ -----						----- mg kg ⁻¹ -----						
51	4,4	17	3	2	5,4	20	237	5	70	30	40	10

Fonte. SFREDO [33]. **Adaptação:** Autor.

Dentre os micronutrientes, o Zn é um dos mais importantes para o bom desenvolvimento da cultura. O Zn está relacionado a atividades biológicas importantes da planta, desenvolvidas por metaloenzimas e metaloproteínas que desempenham funções como respiração celular, fotossíntese, síntese de proteínas e metabolismo de carboidratos e proteínas [33, 34].

O cobre é um micronutriente de baixa capacidade de resposta pela cultura de soja, não apresentando influência significativa no aumento de produtividade do grão em função de sua aplicação, mesmo realizado sequencialmente após cada ciclo de cultivo [35, 36].

Cada nutriente apresenta características distintas nas funções metabólicas e estruturais das plantas. Isso influencia diretamente na taxa absorção dos nutrientes pela planta e sua respectiva distribuição (mobilidade) pelo floema. Os nutrientes N, P, K e Mg apresentam alta mobilidade, enquanto que S, Co, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn são elementos de mobilidade intermediária e os elementos Ca e B apresentam baixa mobilidade. É durante os primeiros 50 dias, aproximadamente, que ocorre a maior velocidade de absorção de nutrientes, coincidente com o início da floração da soja [33, 35].

1.4 Absorção de metais tóxicos pelas plantas de soja

O cultivo de soja, assim como de vários outros, demanda uma necessidade nutricional específica para garantir boa produtividade. Dessa forma, é importante que a disponibilidade destes nutrientes seja devidamente balanceada, a fim de evitar situações onde ocorra a falta ou o excesso dos mesmos para as plantas, gerando distúrbios metabólicos que atrapalhem o desenvolvimento adequado das mesmas.

A planta pode absorver juntamente com os nutrientes, elementos não essenciais que podem promover ou não, efeitos indesejáveis no seu desenvolvimento, resultando apenas na presença desses elementos em partes do tecido vegetal, ou até mesmo, causar a morte da planta. Considerando toda cadeia produtiva de alimentos até chegar aos consumidores finais, os riscos de contaminação de seres vivos aumentam significativamente quando é inserido neste contexto produtos que apresentam concentração/traços de elementos não essenciais.

Assim como algumas plantas podem transferir contaminantes do solo para níveis mais altos na cadeia trófica, outras podem também restringir a absorção destes elementos, de

maneira que o reino animal e vegetal não seja ameaçado pela presença de elementos tóxicos no solo [37]. Cada espécie vegetal possui uma sensibilidade diferente aos metais, essenciais e não essenciais [38]. Esta sensibilidade está relacionada aos níveis toleráveis de metais na planta e também na capacidade de absorção (assimilação) destes metais presentes no solo. O desenvolvimento de espécies vegetais em áreas contaminadas está relacionada à tolerância destas plantas com a toxicidade do elemento contaminante [39].

A soja possui capacidade para absorção de vários metais, essenciais ou não. O cromo, por exemplo, é um nutriente para seres humanos em sua forma trivalente, e ainda, considerado um elemento estável no solo, dessa forma, a toxicidade do mesmo em plantas é considerada rara. No entanto, níveis elevados deste elemento em tecidos foliares foram constatados em cultivos efetuados em solos contaminados. Danos como clorose, redução de crescimento foliar e radicular, são os principais sintomas de contaminação com cromo [40]. O cromo absorvido pelas plantas, pode se acumular nas raízes, diminuindo e/ou impedindo a translocação de nutrientes essenciais para a parte aérea das plantas [41].

Tecidos foliares e radiculares de soja foram analisados após a aplicação de doses de Cr³⁺ em soluções com concentrações que variaram entre 20 e 160 mg L⁻¹, durante 42 dias de estudo. Com 16 dias decorridos da emergência das plantas, foram observados sintomas característicos de contaminação por cromo, como a clorose e a podridão apical das plantas para concentrações superiores a 80 mg L⁻¹ de Cr³⁺. Ao contrário, em doses inferiores a 40 mg L⁻¹, não foram observados efeitos visuais. A diminuição de matéria seca produzida foi acentuada apenas nos testes onde foram aplicados 160 mg L⁻¹ de solução contendo Cr³⁺. O aumento da concentração de Cr⁺³ foi acompanhado pelo aumento dos teores deste metal no tecido foliar da soja, com resultados variando entre 5,8 a 45,7 mg kg⁻¹ para o intervalo de concentrações das soluções de cromo aplicado nos vasos de estudo. Esse efeito demonstra estreita relação entre a absorção e sua disponibilidade [40].

Algumas fontes de micronutrientes empregadas nos fertilizantes minerais apresentam efetiva disponibilização de metais como Cd, Pb e Cr para as plantas de soja. Testes realizados com fertilizantes minerais de micronutrientes FTE BR12 apresentaram resultados médios ao redor de 0,25 mg kg⁻¹ de Cd, 4,25 mg kg⁻¹ de Cr e 5,0 mg kg⁻¹ de Pb em amostras de tecidos foliares de plantas de soja, que receberam tratamento com esses fertilizantes em quantidades proporcionais a 100 kg ha⁻¹ [42].

A aplicação de sais desses 3 contaminantes, (CdCl₂.H₂O – (CH₃COO)₂Pb.3H₂O – CrCl₃.6H₂O) foram realizados concomitantemente, para comparar a velocidade absorção e a solubilidade dos metais em ambos os materiais. Os valores de Cd e Cr encontrados nas amostras de tecidos foliares foram equivalentes aos teores encontrados aplicando FTE BR12, porém, o teor de Pb no tecido foliar das amostras que aplicaram o acetato de chumbo a uma concentração de 50 kg ha⁻¹ foi de 2,3 mg kg⁻¹, em média, metade da concentração quando comparado com a aplicação do fertilizante [42].

As misturas de grânulos de fertilizantes minerais do tipo NPK + Micros, também podem acrescentar teores de metais não essenciais aos solos e consequentemente serem absorvidos

pelas plantas. A avaliação de cinco marcas distintas de um fertilizante NPK+Zn foi realizada para determinar a disponibilidade de Pb, Cd e Cr em plantas de soja. A concentração média de Pb, Cd e Cr nas amostras de fertilizantes minerais utilizadas na fertilização dos vasos de estudo foram, respectivamente, 23, 5 e 25 mg kg⁻¹ de cada contaminante. Após 53 dias da emergência da soja, coletaram-se amostras de tecido foliar determinando a concentração dos metais. Os valores médios de Cd e Cr foram aproximadamente 0,75 mg kg⁻¹ e 3,5 mg kg⁻¹, respectivamente. Os valores médios para Pb foram maiores, quando comparado com os demais metais, apresentando resultados ao redor de 22,5 mg kg⁻¹. A aplicação dos fertilizantes apresentou disponibilização de Cd, Pb e Cr para as plantas de soja e no solo utilizado, para todas as condições de adubação empregada [43].

Além da contaminação dos solos pelo emprego de insumos agrícolas contaminados, pode ocorrer também a contaminação por via eólica, de áreas próximas aos distritos industriais. Testes de cultivo de soja realizado em um solo contaminado com metais, dentre eles Pb e Cd, próximo a uma área industrial de Paulínia, avaliou a translocação desses contaminantes para o grão da oleaginosa. Os teores médios totais de Pb e Cd presentes no solo em estudo foram ao redor de 250 e 25 mg kg⁻¹, respectivamente para cada metal. Os grãos de soja produzidos no solo coletado a uma distância de 100 metros da fonte poluidora, apresentaram 0,89 mg kg⁻¹ de Cd e 19,58 mg kg⁻¹ de Pb [38]. Os teores de contaminantes podem variar em diferentes tecidos da planta e, em geral, os grãos apresentam concentração menor do que os demais tecidos vegetais da planta [44].

Além dos metais se acumularem nos tecidos foliares, raízes e grãos, podem ainda, chegar ao óleo, pela absorção dos mesmos no solo e/ou durante a etapa de extração e refino. Alguns desses metais podem ser essenciais para o organismo de seres vivos, como o Zn, entretanto, outros são potencialmente tóxicos, tais como Pb, Cd e Hg [45]. A aplicação de insumos agrícola, tais como fertilizantes, lamas de esgoto e escórias siderúrgicas são os principais responsáveis pelo aporte de metais como Pb, Cd e Cu no solo, podendo assim, chegar ao óleo da soja [46]. A presença de metais em óleo comestível pode causar intoxicação de seres humanos, mesmo em nível de traços, e ainda, facilitar a degradação oxidativa do óleo, reduzindo assim, a sua vida útil [45].

Estudos de absorção de elementos não essenciais pelas plantas de soja apontam que a cultura possui a capacidade de assimilar esses contaminantes e acumular em diferentes partes do tecido vegetal. Dessa forma, é importante realizar o controle, monitoramento e estudo de todos os insumos utilizados, direta ou indiretamente, na produção desta fonte de alimento, que por sua vez, oferece produtos com abrangência mundial, tanto no setor alimentício como no setor industrial. Outro aspecto importante é avaliar o teor disponível destes contaminantes presentes nos solos, visto que a aplicação de fertilizantes de origem mineral e/ou orgânica pode promover um incremento nas concentrações destas espécies nos solos.

1.5 Métodos para extração de metais em solos

Os métodos descritos na literatura para determinação de nutrientes no solo simulam condições químicas para representar teores disponíveis e acessíveis às vegetações cultivadas neste solo. Igualmente, para os contaminantes, os métodos devem ser capazes de representar as espécies disponíveis, para que seja possível estimar os diferentes níveis da cadeia trófica que este contaminante pode atingir.

A presença de teores de metais tóxicos nos solos não implica necessariamente em uma condição assimilável à planta, permanecendo por anos no solo, sem ao menos ser absorvido em quantidades apreciáveis [47]. Não há correlação entre o teor total do contaminante presente no solo com sua respectiva fitotoxicidade, dessa forma, para se determinar a contaminação e os efeitos sobre as plantas e a cadeia alimentar, deve-se determinar os teores fitodisponíveis [48, 49].

Diferentes metodologias para a determinação de metais em solos são descritas na literatura, a fim de medir os teores de metais tóxicos e suas respectivas formas químicas. A variedade de métodos empregados nas extrações destes contaminantes dificulta a avaliação dos resultados. Assim sendo, os resultados de extração de metais, somente são úteis e aplicáveis ao estudo ambiental, se forem empregados procedimentos de extração bem definidos e aceitos pela comunidade científica [50, 51].

Existem muitas variáveis que podem influenciar na extração de metais do solo, principalmente os fatores correlacionados ao sistema solo-planta. Há muitos trabalhos relatando o emprego de diferentes soluções que simulam a absorção de metais pelas plantas. Dentre as soluções ácidas mais empregadas, destacam-se: HNO_3 (0,4 a 2 mol L⁻¹), água régia - $\text{HNO}_3:\text{HCl}$ (3:1 v/v), HCl (0,1 a 1 mol L⁻¹), CH_3COOH (0,1 mol L⁻¹), Mehlich-1 – HCl (0,05 mol L⁻¹) + H_2SO_4 (0,0125 mol L⁻¹), entre outros. Agentes quelantes e complexantes, além de soluções salinas, também são amplamente empregados na extração de metais em amostras de solos para a avaliação de teores disponíveis, tais como: EDTA (0,01 a 0,05 mol L⁻¹), DTPA (0,005 mol L⁻¹) + TEA (0,1 mol L⁻¹) + CaCl_2 (0,01 mol.L⁻¹), Mehlich-3 - CH_3COOH : NH_4NO_3 : NH_4F : HNO_3 : EDTA (0,2 : 0,25 : 0,015 : 0,013 : 0,001 mol L⁻¹), CaCl_2 (0,01 a 0,1 mol.L⁻¹), NaNO_3 (0,1 mol L⁻¹), AlCl_3 (0,3 mol L⁻¹), entre outros [51 - 54].

A solução de DTPA (0,005 mol L⁻¹) + TEA (0,1 mol L⁻¹) + CaCl_2 (0,01 mol L⁻¹) em pH 7,3, conhecida simplesmente como DTPA+TEA e a solução Mehlich-1 – HCl (0,05 mol.L⁻¹) + H_2SO_4 (0,0125 mol.L⁻¹), são os principais soluções extratores citados em trabalhos de pesquisa, além de serem amplamente empregadas em laboratórios de análises de solos para avaliar a fitodisponibilidade de metais em solos [55, 56].

Soluções extratoras empregando agentes complexantes como o DTPA, por exemplo, apresentam características interessantes em deslocar metais ligados física ou quimicamente a compostos orgânicos e carbonatos, extraíndo as formas solúveis e disponíveis para as plantas e não interferindo nos teores de metais não disponíveis às plantas, também chamados de formas não lábeis [57]. A solução extratora de DTPA+TEA a pH 7,3, foi empregada pela

primeira vez em 1978, para a extração e determinação de Cu, Zn, Fe e Mn em solos alcalino e com pH próximos à neutralidade [58].

Esses ligantes orgânicos apresentam condições favoráveis para a realização do estudo de fitodisponibilidade de metais, pois o DTPA em solução se combina com os íons metálicos adsorvidos na superfície do solo formando complexos solúveis e consequentemente diminuindo sua atividade iônica. Dessa forma, esse agente quelante possui maior capacidade de extrair maior teor de metais lábeis dos metais do solo, sem que interfira nas formas não lábeis. Os teores de metais quelados que se acumulam na solução do solo são influenciados pela atividade do íon livre, pelo equilíbrio químico envolvido entre o solo e os eletrólitos, e pela competição entre o agente quelante e a matéria orgânica pelo íon [59].

Além dos agentes complexantes, a solução ácida Mehlich-1 também pode ser empregada na extração de metais. Mesmo promovendo a solubilização parcial das estruturas minerais das argilas que retém os metais, muitas vezes os teores quantificados analiticamente podem ser correlacionados com a quantidade absorvida pelas plantas [47, 60, 61].

Primeiros testes realizados com a solução extratora Mehlich ocorreram ainda na década de 50. Inicialmente o emprego da solução Mehlich-1 foi realizado para a extração de P, sendo o seu uso estendido para a avaliação de cátions trocáveis em solo, como Na, K e demais micronutrientes. Por ser constituído por ácidos fortes diluídos, o Mehlich-1 pode promover a retirada de metais em formas trocáveis da fase sólida do solo [62], tornando-se relevante no estudo de fitodisponibilidade destes metais em solos [62, 63]. A solubilização dos metais presentes no solo pelo emprego das soluções ácidas são influenciados por alguns fatores como a concentração de ácido, o tempo de extração e da relação solo:solução [64].

1.6 Estratégias para o preparo de amostras.

A realização de um ensaio analítico engloba vários procedimentos que são importantes e imprescindíveis para a obtenção de um resultado confiável e aplicável às respostas do problema investigado. A análise química pode ser compreendida como a investigação de um determinado material a fim de se obter informações relacionadas à sua composição amostral. As etapas de um processo analítico podem ser definidas em amostragem, preparo físico da amostra, pré-tratamento da amostra, quantificação (método instrumental ou clássico) e avaliação do resultado encontrado. A realização inadequada de quaisquer destas etapas irá comprometer criticamente o resultado final encontrado [54, 56, 65].

A etapa de maior complexidade em um procedimento analítico é o tratamento químico da amostra, pois é nesta etapa que deve ocorrer o sinergismo ideal entre o extrator, o analito e a energia empregada no tratamento da matriz, salvo exceções em que a técnica analítica empregada dispensa o preparo da amostra para a determinação do teor do analito. Para a execução adequada no pré-tratamento da amostra alguns pontos devem ser de amplo conhecimento do analista para a correta realização do procedimento analítico, como:

- **Composição da matriz:** A amostra a ser analisada pode apresentar material de origem mineral ou orgânica, ou até mesmo, composta por essas duas classes. Essas características influenciam na composição química do extrator e no tipo de energia empregado no tratamento da amostra.

- **Características físico-químicas do analito:** Talvez seja um dos pontos mais importantes no planejamento de um ensaio químico, pois a forma na qual se pretende apresentar os resultados depende do comportamento reativo deste analito. A representação de teores totais, solúveis e/ou disponíveis, ou ainda, especiação química do analito, somente podem ser realizadas corretamente, a partir de um conhecimento prévio sobre as características físico-químicas do analito de interesse.

- **Composição química do extrator:** Existem inúmeros tipos de substâncias que podem ser utilizadas na composição de soluções extratoras como, espécies salinas, ácidos orgânicos e inorgânicos, espécies oxidantes, agentes complexantes e álcalis. Obviamente que para cada tipo de matriz e analito de interesse, existe um grupo de substâncias que podem ser testadas a fim de buscar o melhor efeito/resultado no pré-tratamento da amostra. Existem analitos que são suficientemente solúveis, de forma que o próprio solvente universal, a água, é suficiente para promover a devida solubilização da espécie de interesse. Em outros casos, é necessária a mistura de várias substâncias na solução extratora para promover a extração adequada do analito.

- **O tipo de energia:** No tratamento de uma amostra, existem vários processos de transmissão de energia que podem ser empregados para promover ou acelerar a reação entre a matriz e a extratora e consequentemente disponibilizar o analito para o meio analítico. São predominantes no pré-tratamento de amostras, em sistemas abertos ou fechados, as energias mecânicas tais como agitações em vortex ou mesas orbitais, ultrassom, radiação térmica (transferência e condução de calor), radiação eletromagnética (micro-ondas – aquecimento e pressão).

A falta de conhecimento em algumas dessas variáveis descritas anteriormente pode acarretar em dificuldades, ou até mesmo em problemas durante pré-tratamento da amostra. Situações como perdas do analito por volatilização, precipitação, adsorção nas paredes dos frascos de reação, podem ser evitadas escolhendo adequadamente a técnica de transferência de energia para a amostra e a composição da solução extratora [65].

As técnicas de manipulação da amostra empregadas durante o pré-tratamento, são os processos conhecidos como dissolução, abertura e digestão. Cada um desses processos empregam procedimentos distintos. No processo de dissolução, a amostra é solubilizada em um meio líquido específico, envolvendo ou não uma reação química. Essa aplicação é muito comum para matrizes de procedência mineral. O processo de abertura compreende na conversão da amostra, através de uma transformação química em altas temperaturas, em outra forma sólida, suficientemente reativa e solúvel com a solução extratora e pode ser empregado para amostras com características inorgânicas. A digestão é empregada em amostras

orgânicas e se refere à decomposição do material por via úmida, empregando soluções extratoras específicas, como ácidos ou bases [65, 66].

1.6.1 Preparo de amostra empregando energia ultrassônica

O pré-tratamento de uma amostra pode ser conduzida por via seca ou via úmida. A maioria dos ensaios analíticos promove algum tipo de aquecimento durante o tratamento da amostra, dada a especificidade analítica em cada situação, seja por forno mufla, forno micro-ondas ou blocos e chapas de aquecimentos. Em outras situações, uma simples agitação é o suficiente para melhorar a interação amostra/reagente, utilizando agitadores orbitais e do tipo vortex. Existe ainda a energia ultrassônica que vem sendo muito empregada, tanto no tratamento de amostras para extração de analitos, quanto em reações de sínteses químicas.

Tratamentos envolvendo o aquecimento de amostras em chapa térmica ou blocos de aquecimento, com temperaturas que podem variar entre 100 a 400 °C são empregados em diferentes classes amostrais, desde sedimentos, fertilizantes e solos, constituídos por minerais, até amostras com características orgânicas, como de tecidos vegetais, lodos de esgoto, materiais turfosos, dejetos animais e amostras líquidas. Com o emprego de misturas de ácidos minerais com características oxidantes, é possível realizar a dissolução completa de amostras sólidas. Além do aquecimento com misturas ácidas, é possível ainda realizar a solubilização destas classes de amostras, empregando rotas por via seca, como a fusão alcalina empregando fornos muflas [15, 67-73].

Técnicas que envolvem o tratamento de amostras empregando forno micro-ondas, agitação mecânica simples e energia ultrassônica, vêm apresentando condições analíticas favoráveis, como a diminuição de resíduos gerados, tempo de preparo e custos [15, 73-76].

O tipo de energia empregado no preparo de amostra depende de alguns fatores, como as características físico-químicas da amostra, do analito e a composição da solução extratora, quando aplicável. O custo dos diferentes equipamentos empregados no pré-tratamento das amostras pode dificultar ou até mesmo impedir o emprego da técnica mais adequada.

Frente às diversidades nos tratamentos de amostras, as técnicas que empregam a energia ultrassônica vêm se apresentando como alternativas viáveis devido aos baixos custos de investimento nos equipamentos e as características operacionais simplificadas.

Energia ultrassônica pode ser definida como ondas mecânicas, promovidas por ciclos repetitivos de compressão e rarefação que se propagam em qualquer meio material, com frequências superiores a 20 kHz. A energia ultrassônica pode ser classificada em ondas de baixa frequência que operam entre 20 e 1 MHz e em ondas de alta frequência que operam com frequência superior a 1 MHz [77].

Para a propagação de ondas ultrassônicas em diferentes dispositivos, são empregados transdutores piezoelétricos ou magnetoestritivos, no entanto, os sistemas mais comuns são compostos por elementos piezoelétricos, que podem ser constituídos, dentre outros materiais, por cristais de quartzo, topázio e turmalina. Quando aplicado um campo elétrico nestes cristais,

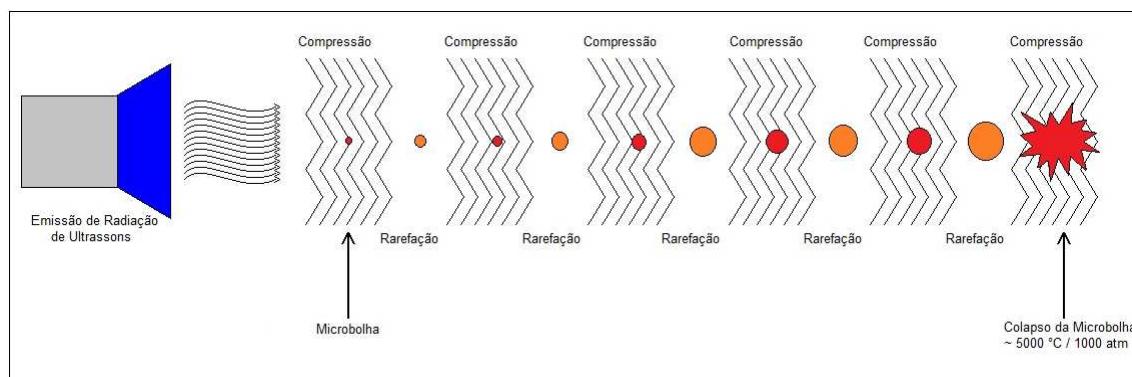
ocorrem deformações eletromecânicas no retículo cristalino, resultado na propagação de ultrassom [78].

Quanto maior a frequência das ondas ultrassônicas, menor é a energia (potência) gerada. Ondas ultrassônicas de alta frequência, normalmente maiores que 2 MHz, são empregadas no ramo da medicina e engenharia, principalmente para a geração de imagens. Essas ondas de alta frequência não apresentam características favoráveis para as aplicações laboratoriais, tais como, limpeza de vidrarias e dissolução de reagentes, tão pouco em estudos de tratamento de amostras.

Os dispositivos de ultrassons de maior potência operam entre 20 e 100 kHz e são amplamente empregados no estudo de pré-tratamento de amostras, por produzir efeitos combinados de agitação, cavitação e aquecimento, com respectiva geração de microfluxos e microjatos no meio irradiado [78].

A propagação intensa de ondas mecânicas de alta potência (ultrassons) em um meio líquido durante o processo de sonicação, resulta no efeito de cavitação, que é compreendido como a formação de microbolhas de vapor ou gás em um líquido devido a quedas consecutivas de pressão do meio, ou seja, durante o ciclo de rarefação. Uma vez formada as microbolhas, os ciclos de compressão e rarefação do meio líquido faz com que essas microbolhas aumentem de tamanho, devido ao efeito cinético, até atingir uma condição instável que as levam ao colapso, durante o ciclo de compressão, conforme apresentado na Figura 2.

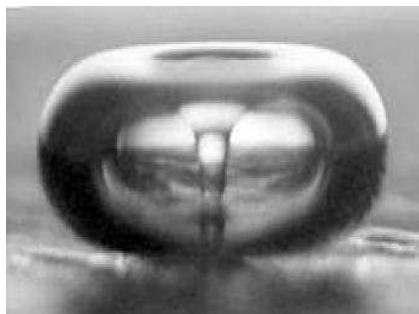
Figura 2. Dinâmica de formação da microbolha até sua implosão causada pelo efeito de cavitação.



Fonte: Autor.

O efeito de cavitação depende das características físico-químicas, tais como a tensão superficial e viscosidade do líquido, a temperatura do meio e gases dissolvidos na solução. Estima-se que próximo ao momento da implosão ocorram temperaturas ao redor de 5200 K no centro da microbolha e 1900 K na interface entre a bolha e o líquido, com taxas de aquecimento e resfriamento que podem atingir 10^{10} K.s⁻¹. A pressão no momento da implosão pode chegar a 1000 atm na interface entre a microbolha e o líquido, gerando microjatos que atingem uma velocidade de 100 até 400 m.s⁻¹ [77 – 79]. A Figura 3 apresenta uma imagem no momento da implosão da microbolha, sobre a superfície de um material.

Figura 3. Implosão de uma microbolha.



Fonte: JÚNIOR [80].

Devido as características físicas internas das microbolhas, podem ocorrer cisões homolíticas nas ligações químicas de moléculas de água que penetraram a bolha, gerando radicais livres muito instáveis no meio irradiado, tais como $\cdot\text{OH}$ e $\cdot\text{O}_2\text{H}$ e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que podem ser responsáveis pelo aumento da reatividade química do meio [77, 78].

Um dos principais benefícios ao se empregar o efeito de sonicação nos processos de dissolução de amostras é o aumento da área superficial provocada pelo colapso das microbolhas na superfície das amostras sólidas, sendo capaz de promover até a fusão de materiais metálicos nano fragmentados. Os microjatos gerados pelo colapso das microbolhas direcionados a superfície dos sólidos promovem a erosão do material e consequentemente aumenta a reatividade entre o solvente e a amostra [77 - 82].

Os principais dispositivos empregados na irradiação de energia ultrassônica são a sonda e o banho de ultrassom. A sonda ultrassônica apresenta maior potência quando comparado ao banho, pois opera em frequências menores que o banho ultrassônico. Por operar em maiores potências, a sonda, apresenta maior eficiência no processo de dissolução de amostra. A sonda pode ser introduzida no fluido de interesse e irradiar a energia ultrassônica pontualmente na amostra. A sonda pode apresentar algumas desvantagens, quanto ao fato de ser possível tratar apenas uma amostra por vez e aumentar risco de contaminação das amostras, uma vez que a sonda é inserida diretamente nos extratos. Apesar de a sonda apresentar maior potência de irradiação, é mais comum o emprego dos banhos ultrassônicos, pois é possível o tratamento de várias amostras ao mesmo tempo e o risco de contaminação é menor [83].

A energia ultrassônica é empregada no tratamento das mais variadas classes de matrizes para determinação dos teores de metais, tais como solos, sedimentos e fertilizantes [20, 76, 84-86], biológicas, ambientais [87, 88], alimentícias [89, 90], de óleos derivados de petróleo [91, 92] e tecido vegetal [75, 93-96]. Por se tratar de uma técnica que apresenta baixo custo analítico, condições operacionais simplificadas, alta frequência analítica e eficiência significativa na extração de metais em matrizes em um tempo relativamente pequeno, a energia ultrassônica se tornou uma técnica consolidada no tratamento de amostra.

1.7 Técnicas Instrumentais para determinação de metais

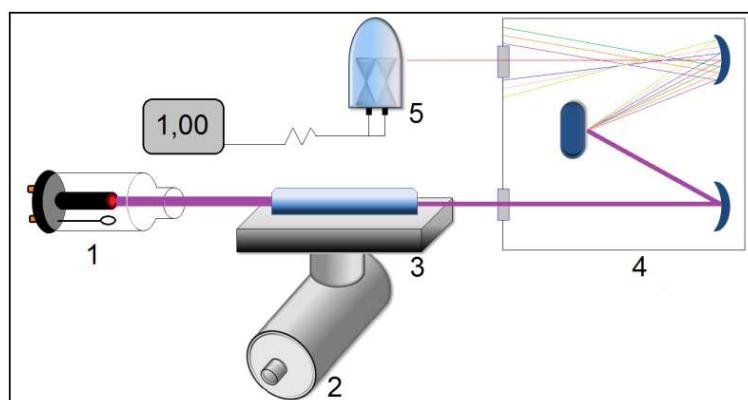
1.7.1 Espectrometria de Absorção Atômica

A espectrometria de absorção atômica pode ser empregada na determinação de aproximadamente 70 elementos químicos presentes nos mais diferentes tipos de matrizes, desde orgânicas a inorgânicas [97 - 99]. A absorção de energia em linha espectral específica incidente em um átomo no estado fundamental gasoso é o princípio básico de funcionamento desta técnica. A determinação destes elementos, somente é possível, quando os átomos se encontram no estado gasoso, dessa forma, o processo de atomização pode ser compreendido como uma das etapas mais críticas das análises por espectrometria de absorção atômica, influenciando diretamente na sensibilidade, precisão e exatidão do método [97, 98].

Quando um elemento químico se encontra, seja no seu estado atômico ou íon elementar, na forma gasosa, o mesmo possui capacidade de absorver radiações eletromagnéticas no mesmo comprimento de onda em que emite. Esse é o princípio de Kirchoff, postulado em 1860, que resultou como teoria fundamental da espectrometria de absorção atômica [98].

Existem diferentes métodos que podem ser empregados para promover a atomização da amostra, porém, na espectrometria de absorção atômica são aplicados os métodos de chama e aquecimento eletrotérmico (forno de grafite), em que as faixas de temperatura de trabalho de ambos os métodos ficam ao redor de 3000 °C [97 - 98]. A Figura 4 ilustra as principais partes do espectrômetro de absorção atômica com chama:

Figura 4. Dispositivos do espectrômetro de absorção atômica com chama.



Legenda: (1) Lâmpada de Catodo Oco, (2) Sistema Nebulizador, (3) Queimador, (4) Monocromador, (5) Detector Fotomultiplicador. **Fonte:** Autor.

(1) Fonte de radiação: Pode ser uma lâmpada de catodo oco, ou lâmpada de descarga sem eletrodo. O objetivo principal da lâmpada é emitir radiação eletromagnética em comprimento de onda específico que será direcionado ao queimador, com auxílio de um conjunto óptico. As lâmpadas são específicas para cada elemento que se deseja determinar o teor. Quando é aplicado um campo

elétrico entre os eletrodos, o gás (geralmente um gás nobre) presente no interior desta lâmpada ioniza gerando um estado de plasma. Os íons desse gás são acelerados para o cátodo promovendo consequentemente a atomização do elemento químico constituinte do cátodo. Devido a colisões sucessivas, os elétrons desse átomo no estado gasoso, passam para um nível mais energético. Durante o estágio de relaxamento destes elétrons e consequente retorno ao seu estado energético de origem, são gerados fótons que por sua vez são direcionados ao queimador, onde ocorre a absorção desta radiação eletromagnética pelo mesmo elemento químico que está sofrendo atomização na chama [97].

- (2) **Nebulizador:** A entrada da amostra no equipamento ocorre pelo nebulizador, que é responsável por succionar a amostra, transformá-la em aerossol e misturá-la com os gases de combustão. O ar comprimido injetado perpendicular à saída da agulha promove a succção da solução amostral, transformando-a em pequenas gotículas (aerossol); este fenômeno é conhecido como efeito Venturi. A mistura dos gases com a amostra é direcionada ao queimador, onde ocorrerá a queima e o processo de atomização [98].
- (3) **Queimador / Atomizador:** No queimador ocorre a queima dos gases de combustão com a amostra, promovendo a atomização das espécies de interesse analítico. As misturas de gases são, convencionalmente, ar e acetileno que pode atingir temperaturas ao redor de 2400 °C, e ainda, acetileno e óxido nitroso, cuja chama pode gerar temperaturas ao redor de 3000 °C [99]. O emprego de queimadores específicos para as diferentes composições dos gases de combustão se faz necessário, devido às diferenças de temperaturas das chamas.
- (4) **Conjunto Monocromador:** A função do monocromador é selecionar e isolar a linha do espectro eletromagnético que está sendo absorvida pelo elemento químico de interesse analítico. A fenda de saída, com abertura que pode variar entre 0,2 a 2 nm, limita a faixa do comprimento de onda que chegará ao detector [97].
- (5) **Detector:** A radiação eletromagnética é recebida em um tubo fotomultiplicador, que converte o sinal fotoelétrico em um valor numérico, com base na intensidade de radiação eletromagnética recebida no detector. As medidas na espectrometria de absorção atômica são dadas em sinais de concentração e absorbância e as medidas seguem o princípio da Lei de Lambert-Beer [97].

A espectrometria de absorção atômica com chama é amplamente difundida e uma das principais técnicas instrumentais para determinação de teores de metais presentes em diferentes classes de matrizes. Alguns fatores como, custo de investimento em equipamento e insumos, e ainda, simplicidade operacional e robustez, faz com que esses equipamentos sejam

adotados desde laboratórios de pesquisas até prestadores de serviços em todas as partes do mundo. Além da técnica de atomização com chama, existe a técnica de atomização por aquecimento eletrotérmico, empregando um tubo de grafite onde é realizada a introdução da amostra, representada pela sigla GF AAS (*graphite furnace atomic absorption spectrometry*) [99].

Outra técnica da espectrometria de absorção atômica é a geração de hidreto metálicos, HG AAS (*hydride generation atomic absorption spectrometry*), comumente empregada para determinação de As, Hg, Se e Sb, dentre outros metais passíveis de formação de hidretos voláteis, quando promovido a reação destes íons com solução redutora de borohidreto de sódio (NaBH_4) [97, 98, 100]. Especificamente para determinação do teor de Hg, pode ser realizada também a análise pelo método de geração de vapor frio, CV AAS (*cold vapor atomic absorption spectrometry*), uma vez que o mercúrio é o único elemento químico metálico que em temperatura ambiente e condições pré-estabelecidas é capaz de gerar átomos no estado fundamental gasoso [101].

1.7.1.1 Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio.

O método de determinação de Hg° por geração de vapor frio é usualmente empregado em procedimentos analíticos oficiais para aplicação em águas, efluentes, fertilizantes e minerais, entre outros. O método consiste em reduzir os íons de mercúrio presente em solução em Hg° , e carreá-lo por um gás inerte como o Ar ou N_2 até a célula de absorção constituída de um tubo de vidro cilíndrico com janelas de quartzo, acoplada sob o queimador e precisamente ajustada no caminho óptico para que o feixe de radiação eletromagnética emitida pela lâmpada de catodo oco passe por esta célula. Uma vez que o mercúrio é introduzido na sua forma elementar gasosa na célula de absorção, é dispensada a etapa de aquecimento para promover a atomização do Hg, princípio este que deu origem ao nome da técnica, “vapor frio” [98]. Para promover a formação do vapor de mercúrio elementar, é comumente empregada solução de NaBH_4 ou SnCl_2 .

A solução de SnCl_2 promove uma reação estritamente seletiva com íons de Hg, levando à formação de vapor de mercúrio elementar. Umas das características desta técnica é que o SnCl_2 reage apenas com Hg^{2+} (íons livres em solução). Nesse caso, este método pode ser considerado para a determinação seletiva desta espécie de Hg mesmo na presença de outras formas químicas de Hg em solução, uma vez que compostos orgânicos como metil-Hg e etil-Hg não reagem com a solução de SnCl_2 . A presença de outros íons de metais de transição em solução não interfere na reação de redução do Hg^{2+} . Por outro lado, quando empregado o NaBH_4 como agente redutor, todas as formas de mercúrio presentes em solução são convertidas quantitativamente em vapor de mercúrio elementar [98 - 101]. A reação química envolvida no processo de formação de vapor frio quando empregada solução redutora de SnCl_2 é representada a seguir:



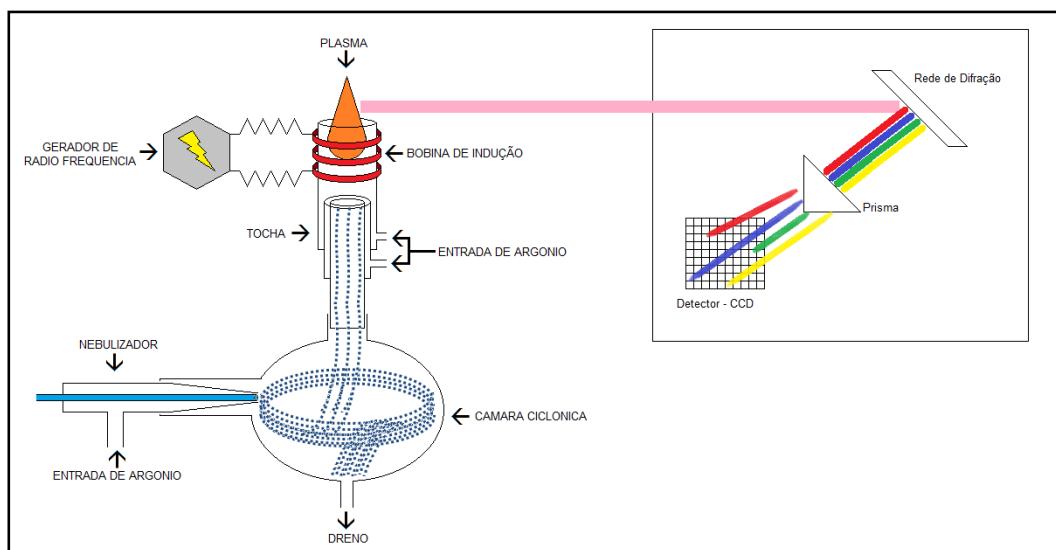
A determinação de Hg empregando a espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio pode ser empregada para diferentes matrizes como tecido animal, solos, água, sedimentos, minérios e fertilizantes [99, 101].

1.7.2 Espectrometria de Emissão Atômica

A espectrometria de emissão atômica é baseada na medida de energia emitida por um átomo ou íon elementar no estado gasoso, após receber energia de uma fonte externa. Quando os átomos e/ou íons elementares absorvem energia de uma fonte de alta temperatura, saltam para níveis mais energéticos, sendo esse efeito conhecido como estado excitado. Em frações de nanosegundos, esses elétrons emitem uma radiação eletromagnética em um comprimento de onda específico, retornando assim ao seu estado fundamental [97].

Os elementos químicos apresentam configurações eletrônicas muito particulares, o que faz com que cada um tenha seus comprimentos de ondas de absorção e emissão de radiação eletromagnética específicos, tornando a espectrometria atômica, uma das mais eficientes técnicas instrumentais para determinação de metais em solução [97]. A Figura 5 apresenta as principais partes de um ICP OES.

Figura 5. Esquema do espetrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.



Fonte: Autor

A amostra pode ser introduzida no nebulizador com o auxílio de uma bomba peristáltica. Comumente são empregados nebulizadores pneumáticos do tipo concêntrico, acoplado à câmara de nebulização do tipo ciclônica, que tem como função promover o descarte das gotículas maiores do aerossol, deixando ser carreado à tocha apenas a parte

mais fina desse aerossol. Em média apenas 5% da amostra nebulizada chega à tocha e atinge o plasma [102].

A tocha de geração do plasma é constituída de 3 tubos concêntricos de quartzo. Pelo tubo de menor diâmetro (interno) ocorre o transporte do aerossol pelo gás nebulizador normalmente a um fluxo de 1 L min^{-1} . No tubo intermediário ocorre a entrada de argônio para promover a estabilização plasma, com fluxo que pode chegar a $1,5 \text{ L min}^{-1}$. No tubo de maior diâmetro (externo), também ocorre a entrada de um fluxo de argônio que pode variar entre 8 a 20 L min^{-1} , responsável por gerar e sustentar o plasma [103].

O plasma inicialmente é gerado por uma faísca na bobina de indução. Esta bobina de indução é alimentada por uma fonte de energia de radio frequência e opera com uma corrente que pode variar entre de 0,5 a 2,0 kW e uma frequência de 40 MHz. A corrente que passa pela bobina de indução gera um campo magnético que faz com que os cátions de argônio e seus elétrons flutuem em movimento circular. Por esta indução do campo magnético, as partículas, os elétrons e íons são acelerados, promovendo uma colisão com outros átomos. O resultado destas colisões entre partículas gera um elevado aquecimento ôhmico, que pode oscilar entre 6.000 e 10.000 K [103, 104].

Os íons e átomos dos analitos de interesse excitados no plasma emitem radiação eletromagnética que é recebida pelo monocromador. Convencionalmente o ICP OES é equipado com um monocromador de alta resolução, que emprega rede de difração e prisma para gerar um padrão bidimensional de comprimentos de ondas individuais, que atingirá um detector do tipo CCD (*Charge-Coupled Device*), responsável por medir a intensidade de radiação recebida por diferentes comprimentos de ondas [97, 102, 103].

1.7.2.1 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas.

Uma fonte alternativa de excitação para a determinação multielementar empregando a espectrometria de emissão óptica é o plasma induzido por micro-ondas (MIP – *Microwave-induced Plasma*). Em comparação às técnicas tradicionais de ICP, o plasma induzido por micro-ondas pode ser considerado uma técnica promissora por apresentar baixos custos de investimento e operação, além de bom desempenho na detecção de analitos no estado gasoso [105].

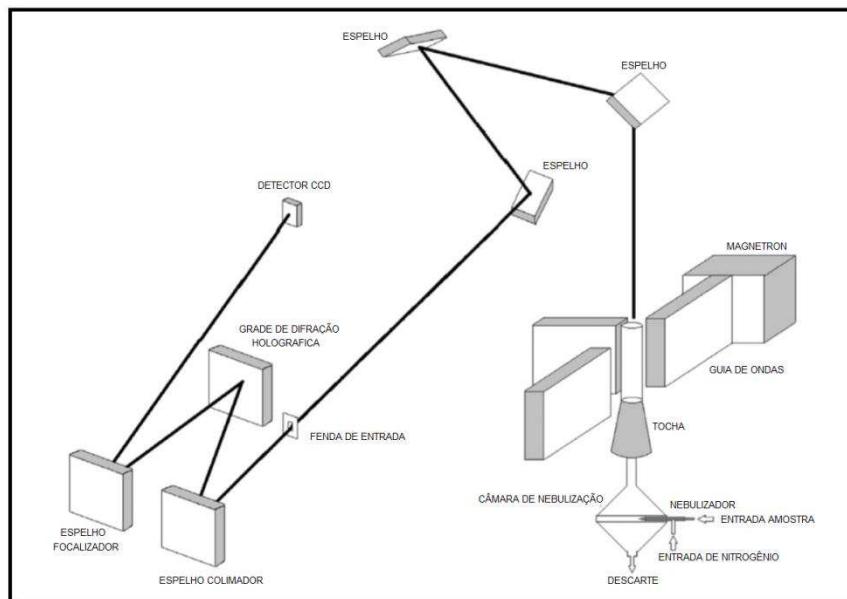
O argônio e o hélio possuem aplicação tradicional na técnica de MIP OES, porém, a utilização de nitrogênio, proveniente do ar atmosférico, permitiu a diminuição significativa dos custos operacionais e proporcionou um cenário competitivo para a técnica de plasmas gerados por micro-ondas. Em 1963 foi reportada a primeira aplicação analítica da espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas, porém, apenas em 2011 foi oferecido ao mercado o primeiro instrumento comercial, com plasma sustentado por nitrogênio proveniente do ar atmosférico [106].

No estudo de utilização do nitrogênio como gás de geração do plasma, em sistemas de espectrometria de emissão óptica, com plasma induzido por micro-ondas, comparado aos sistemas tradicionais de ICP OES empregando argônio, demonstrou que os limites de detecção do MIP OES são próximos aos limites do ICP OES, demonstrando assim um desempenho significativo para a técnica [104, 105].

O sistema de geração de micro-ondas responsável por induzir o plasma, convencionalmente opera em uma frequência de 2450 MHz. As fontes mais comuns para geração de micro-ondas são os magnetrons, capazes de produzir ondas eletromagnéticas constantes de alta frequência. Para gerar o plasma deve ser aplicado um potencial elétrico através de um condutor resistente ao calor que introduzirá elétrons ao gás de plasma. Após a introdução destes elétrons, um sistema de cavidade ressonante produz ondas eletromagnéticas (magnetron) com campo elétrico ajustado ao centro da cavidade e direcionado axialmente para o tubo de geração de promovendo assim a ionização do gás e consequentemente, formando-se o plasma [102, 104, 105].

Em fontes de plasmas induzidos por micro-ondas, no qual emprega o nitrogênio, a ignição inicial do plasma é realizada com argônio. Sequencialmente o fluxo de argônio é substituído gradualmente por nitrogênio, imediatamente após a produção do plasma de argônio, mantendo assim um plasma estável com um gás molecular [102]. Esse sistema é empregado no primeiro modelo comercial da Agilent, 4100 MP-AES. A Figura 6 apresenta o sistema de funcionamento do equipamento da Agilent.

Figura 6. Dispositivo de espetrômetro de emissão ótica com plasma induzido por micro-ondas.



Fonte: NIEDZIELSKI et al. [106]. **Adaptação:** Autor

A técnica de MIP OES com plasma de nitrogênio vem sendo aplicada na determinação de diferentes metais em várias classes amostrais, tais como solos [107], minerais [106], combustíveis [109 - 112], alimentícias [108], fertilizantes e ração animal [104].

1.7.3 Técnicas eletroquímicas

As técnicas eletroquímicas de análise, conhecidas como técnicas eletroanalíticas, fazem uso de propriedades elétricas (diferença de potencial, corrente elétrica, entre outros) a partir de fenômenos nos quais uma espécie redox interage física e/ou quimicamente com demais componentes do meio [113 - 115].

Existem várias técnicas eletroanalíticas que têm sido utilizadas para inúmeras aplicações, entre elas no monitoramento ambiental e no controle de qualidade de produtos e processos industriais. Sua popularidade se deve a uma série de vantagens tais como a instrumentação ser de custo relativamente baixo, portátil e de fácil manipulação, possibilidade de especiação química, seletividade para espécies eletroativas, ampla faixa linear de concentração, limites de detecção baixos (10^{-13} a 10^{-15} mol L⁻¹) e a possibilidade da medida ser realizada diretamente na amostra sem necessidade de etapas de pré-tratamento ou de separações prévias [113 - 115].

As técnicas eletroanalíticas requerem dois tipos de condutores elétricos (eletrodos) em contato com um condutor iônico (eletrólito), os quais constituem uma célula eletroquímica. O processo eletroquímico ocorre então na interface eletrodo – solução, sendo que a superfície do eletrodo é uma junção entre um condutor iônico e um condutor elétrico [113, 114].

1.7.3.1 Voltametria cíclica

Os métodos voltamétricos são utilizados para a obtenção de informação eletroquímica qualitativa ou quantitativa sobre um determinado analito através de medidas da corrente em função do potencial aplicado [97].

A voltametria cíclica é amplamente utilizada em muitos estudos fundamentais de processos de redução e oxidação, processos de adsorção às superfícies de eletrodos e mecanismos de transferência de elétrons, e é a técnica mais comumente usada para adquirir informações qualitativas sobre o comportamento eletroquímico de um analito [97, 113 - 115].

Nesta técnica, a varredura de potencial é iniciada com a aplicação de um valor de potencial no qual não ocorre nenhuma reação de oxirredução. Posteriormente, varreduras são feitas em um sentido (oxidação ou redução), e em seguida, no sentido oposto, construindo assim um ciclo completo. O sentido da varredura inicial pode ser tanto negativo, quanto positivo, o que dependerá da composição da amostra a ser analisada [97, 113].

Em uma análise utilizando a técnica de voltametria cíclica é possível verificar a resposta de corrente de um eletrodo de trabalho em uma solução em repouso utilizando uma forma de onda de potencial triangular e durante a varredura de potencial, um potenciómetro

mede a corrente resultante do potencial aplicado e como resultado, o valor obtido da corrente versus potencial gera um voltamograma cíclico [97, 113].

Para se realizar as medidas voltamétricas, uma célula eletroquímica é montada utilizando três eletrodos: um eletrodo de trabalho, um eletrodo referência e um eletrodo auxiliar. Estes eletrodos são imersos em um eletrólito, que garante o controle difusional das espécies eletroativas, e ao serem conectados a um potenciómetro que aplica potenciais num intervalo pré-definido, geram um sinal de corrente que é diretamente proporcional à concentração do analito [116].

1.7.3.2. Voltametria de redissolução catódica e anódica

A voltametria de redissolução abrange um grande número de procedimentos eletroanalíticos que possuem uma etapa inicial de pré-concentração como característica em comum. Uma reação eletroquímica entre o analito e o eletrodo de trabalho deve ocorrer antes da etapa de varredura, ocorrendo assim uma etapa de pré-concentração do analito seguida por uma etapa voltamétrica, o que faz com que a voltametria de redissolução seja extremamente sensível para análise de elementos traços, o que permite a determinação de quantidades baixas de analito, em níveis de concentração abaixo de 10^{-10} mol L⁻¹, uma vez que o analito pode ser concentrado por fatores de 100 a 1.000 vezes [97, 113].

A sensibilidade está relacionada com a etapa de pré-concentração do analito. Nessa etapa é realizada a deposição do analito em um eletrodo de trabalho, geralmente a partir de uma solução mantida sob agitação. A duração dessa etapa é selecionada de acordo com a concentração dos analitos a serem determinados, ou seja, o tempo de deposição é diretamente proporcional à quantidade de analito depositada da superfície do eletrodo de trabalho [97, 113].

Normalmente, apenas uma pequena fração do analito é depositada no eletrodo de trabalho e os resultados quantitativos dependem do potencial aplicado para deposição, tamanho do eletrodo, tempo de deposição, velocidade de agitação e outros padrões utilizados na calibração [97, 113].

Terminada a etapa de deposição, a agitação é encerrada para cessar com o transporte de massa e o analito depositado na superfície do eletrodo de trabalho é redissolvido em solução aplicando-se um potencial anódico ou catódico, podendo ser determinado por qualquer procedimento, voltamétrico ou potenciométrico. Diferentes metodologias de redissolução podem ser utilizadas, sendo elas a redissolução catódica (CSV), quando a espécie pré-concentrada passa por uma reação eletroquímica de redução, e redissolução anódica (ASV) que envolve uma reação eletroquímica de oxidação [97, 113].

Na ASV, o eletrodo de trabalho funciona como um catodo durante a etapa de pré-concentração do analito (deposição catódica), ou seja, o analito é reduzido e depositado na superfície do eletrodo frente à aplicação em um potencial suficiente para promover a reação e por tempo de deposição suficiente para ocorrer a pré-concentração. Posteriormente o eletrodo

de trabalho passa a funcionar como um anodo e o analito é oxidado e redissolvido em solução (redissolução anódica) [97, 113].

A CSV é uma imagem espelhada da ASV, pois se trata de uma deposição anódica e uma redissolução catódica do analito, o que faz o eletrodo trabalhar como anodo na etapa de deposição e como catodo na etapa de redissolução, sendo assim, o analito é oxidado durante a etapa de deposição e posteriormente reduzido e redissolvido em solução [97, 113].

1.7.3.3 Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

A técnica de voltametria de onda quadrada, do inglês *Square Wave Voltammetry*, é uma técnica de pulso muito rápida e sensível, que possui limites de detecção que podem ser comparados aos obtidos por técnicas cromatográficas e espectroscópicas [117].

Nessa técnica a forma do pico de corrente resultante é proveniente de uma onda quadrada simétrica aplicada ao eletrodo de trabalho, sobreposta sobre uma rampa de potencial na forma de escada de tal forma que o pulso direto da onda quadrada coincide com o inicio do degrau da rampa. A corrente é amostrada duas vezes durante cada ciclo da onda quadrada, as medidas de corrente são feitas no final dos pulsos diretos e reversos, assim esta dupla amostragem da corrente garante uma minimização da contribuição da corrente capacitiva (corrente de fundo) sobre a corrente total medida e a diferença da corrente entre as duas amostragens é registrada em função do potencial da rampa em degraus [117, 119].

As frequências usadas na voltametria de onda quadrada encontram-se na região de 1 a 120 Hz. Dentro desta faixa de frequências, as medidas podem ser feitas com velocidades cem vezes maiores que nas outras técnicas voltamétricas e de modo semelhante, a voltametria de onda quadrada produz picos para processos faradaicos, cuja altura é proporcional à concentração da espécie eletroativa [117, 118]. Portanto, a combinação da técnica de redissolução eletroquímica (sendo a ASV a mais comum) com a voltametria de onda-quadrada consiste na voltametria de redissolução anódica de onda-quadrada (SWASV), comumente aplicada para a determinação de metais traço em amostras variadas [119].

CAPÍTULO 2

2. Objetivos

2.1 Objetivos Gerais

- Avaliar o potencial das plantas de soja em absorver Cu, Pb e Cd, presentes no solo, determinando os teores destes metais, no tecido foliar, óleo e farelo desengordurado;
- Avaliar alternativas no preparo de amostras de fertilizantes para extração acelerada de metais, assistidas por ultrassom.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a fertilidade do solo a ser utilizado no plantio da soja e realizar as devidas correções nutricionais;
- Realizar o plantio de soja em 6 vasos tratados com diferentes doses de Cu, Pb e Cd;
- Determinar os teores de Cu, Pb e Cd, empregando MIP OES, em amostras de solos, comparando as soluções extratoras DTPA-TEA em pH 7,3 e Mehlich-1, antes e após o cultivo da soja;
- Coletar e tratar amostras de tecido foliar de soja para determinação de Cu, Pb e Cd, por MIP OES;
- Coletar os grãos de soja produzidos no plantio e extrair o óleo;
- Analisar os teores de Cu, Pb e Cd nas amostras óleo por voltametria de redissolução anódica por onda quadrada;
- Analisar os teores de Cu, Pb e Cd nas amostra de farelo de soja desengordurado, por MIP OES;
- Desenvolver método simplificado para extração de Hg em amostras de fertilizantes minerais, empregando banho ultrassônico e analisar por CV AAS e MIP OES;
- Avaliar o sinergismo entre o aquecimento e a sonicação na extração e determinação simultânea de Cu, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr em amostra de fertilizante mineral empregando MIP OES.

CAPÍTULO 3

3. Procedimento Experimental

O principal objeto de estudo deste trabalho relaciona-se ao cultivo de plantas de soja sob a influência de metais tóxicos, como Pb e Cd, para a realização do estudo dos teores remanescentes destes metais em amostras do tecido vegetal, óleo, farelo desengordurado e nas próprias amostras de solos de cada vaso de estudo. Como estudo secundário, foram avaliadas dois procedimentos de pré-tratamento de amostras de fertilizantes minerais para a extração acelerada de metais, empregando energia ultrassônica, sendo um para determinação de Hg, e outro para determinação simultânea de Cu, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr. Os elementos Cu, Zn, e Mn constituem micronutrientes essenciais às plantas, enquanto que Hg, Pb, Cd e Cr são contaminantes comumente presentes em matérias primas de fertilizantes minerais. Apesar de existirem outros metais classificados como nutrientes essenciais, e outros como contaminantes, foram selecionados apenas esses elementos neste estudo, pois os mesmos compõem as amostras avaliadas nos ensaios realizados.

3.1 Amostras

Este trabalho investigou diferentes tipos de amostras, tais como solos, tecidos foliares, óleo de soja, farelo de soja e fertilizantes minerais.

3.1.1 Amostra de solo

O solo utilizado para o plantio da soja foi acondicionado em 6 vasos. Antes do plantio das sementes de soja, realizou-se a análise dos teores de nutrientes disponíveis no solo, para prever possível correção nutricional antes do cultivo da soja. Além da determinação do teor de nutrientes disponível no solo, determinou-se também os teores de Pb e Cd, presentes no solo.

3.1.2 Amostra de tecido foliar

As amostras de tecidos foliares foram coletadas ao final de 70 dias do plantio das sementes. Deste período em diante, a planta deixa de extrair dosagens significativas de nutrientes do solo e passa a consumir o que foi estocado em suas reservas foliares. Foram plantados 6 vasos, porém, apenas 4 vasos completaram o ciclo completo de cultivo, gerando amostras de tecido foliar e grãos de soja.

3.1.3 Amostras de óleo de soja e farelo desengordurado

Dos vasos cultivados, amostras distintas de grão de soja foram geradas. As amostras de óleo de soja foram obtidas realizando a extração por Soxhlet. O óleo foi separado do farelo, para posterior análise separadamente.

3.1.4 Amostra de fertilizante mineral

Foram separados 6 tipos de fertilizantes minerais para a realização deste trabalho.

A primeira amostra denominada como NPK+Micros (10.10.10 + 0,5% Zn + 0,2% Mn + 0,2% Cu + 0,08% Mo + 2% B) foi utilizada para a fertilização dos vasos de cultivo de soja.

Uma amostra de referência¹, denominada MRR Nº 01/2010 e duas amostras do programa interlaboratorial² da Agência Nacional de Difusão de Adubos (ANDA), denominadas como mix micro 05A/13 e 05B/13, foram empregadas nos estudos voltados ao desenvolvimento de um novo método de preparo de amostras de fertilizantes para determinação de Hg. Outra amostra comercial, NPK+Micros (5.25.20 + 0,05% Mo + 0,03% Co + 0,5% Cu + 1% B), também foi empregada na avaliação de extração acelerada de Hg em fertilizantes minerais.

Para o desenvolvimento de um novo método de preparo de amostras visando à extração simultânea de Cu, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr em amostras de fertilizantes, empregou-se uma amostra referência de fertilizante inorgânico, classificada como mix micro (mistura de matérias primas contendo Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Pb, Cd, Cr e Hg), identificada pelo programa interlaboratorial da Agência Nacional de Difusão de Adubos - ANDA como amostra 38B (ano 2013).

3.2 Instrumentação

A quantificação dos teores de metais presentes nos extratos amostrais de solos, tecidos foliares, farelos desengordurados e fertilizantes minerais foram realizados no espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES, *microwave-induced plasma optical emission spectrometry*) da Agilent, modelo 4100 MP-AES, empregando nitrogênio proveniente do ar atmosférico como gás suporte para o plasma. As configurações operacionais do equipamento são apresentadas na Tabela 2.

¹ Amostra de referência, ou ainda material de referência, possui valores estabelecidos para ser utilizado na avaliação da exatidão de um método analítico. As amostras de referência podem ser certificadas através de comparações interlaboratoriais.

² Programas Interlaboratoriais são programas que promovem ensaios de proficiência e comparação entre laboratórios de determinado segmento analítico, com objetivo de avaliar diferentes métodos analíticos baseando-se na qualidade dos resultados obtidos.

Tabela 2. Condições Operacionais para a determinação dos metais por MIP OES.

Parâmetros	Cu (I)	Pb (I)	Mn (I)	Zn (I)	Cr (I)	Cd (I)	Ca (I)	Mg (I)	K (I)
Comprimento de Onda (nm)	324,75	405,78	403,08	213,86	425,43	228,80	422,67	285,21	769,89
Pressão do Nebulizador (kPa)	200	200	220	120	240	140	240	200	240
Posição de Visualização (mm)	-10	0	-10	10	-10	10	0	0	10
Curva Analítica (mg L ⁻¹)	--- 1,0 – 10,0 ---		--- 1,0 – 20,0 ---		1,0 – 10,0	0,1 – 0,5	2,0 – 10,0	0,4 – 2,0	0,5 – 2,0
Nebulizador					Pneumático Concêntrico				
Câmara de Nebulização					Ciclônica de passo único				
Velocidade da Bomba (rpm)					15				
Tempo de Leitura (s)					5				
Replicatas					3				
Tempo de Estabilização (s)					7				
Tempo de Captação (s)					7				
Fluxo de Nitrogênio (L min ⁻¹)					22,5				
Fluxo de Amostra (mL min ⁻¹)					6,0				

(I) → Este símbolo precedido pelo elemento químico representa linha espectral de emissão atômica.

Este equipamento oferece versões com uma bomba peristáltica de 5 canais para determinações de Hg, As e Se, para a geração dos hidretos e vapor de mercúrio. No entanto, o equipamento utilizado para a realização deste estudo possui bomba peristáltica para apenas 3 canais.

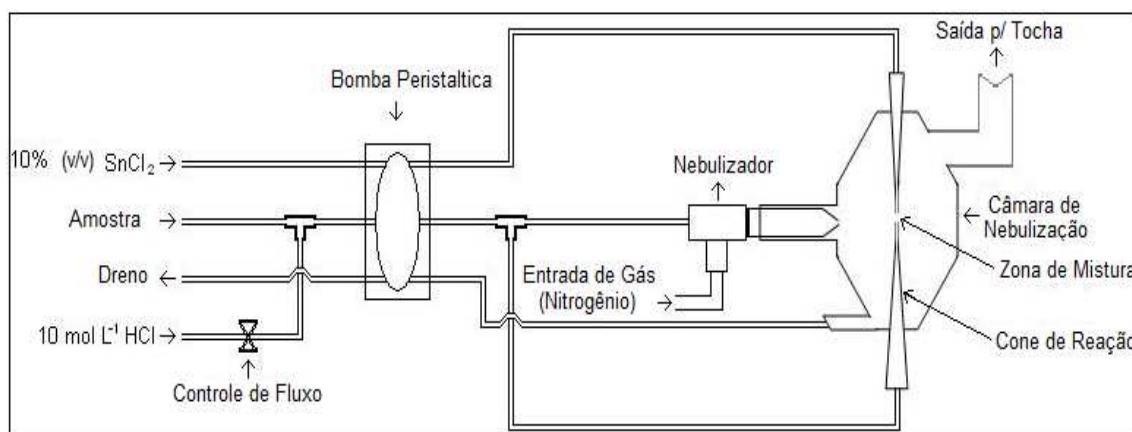
Dessa forma, para a realização deste trabalho foi realizado um ajuste no sistema de injeção da amostra e desenvolvido um sistema para geração do vapor de Hg, para sua respectiva determinação por MIP OES, conforme ilustrada na Figura 7. No primeiro canal foi injetada uma solução de SnCl_2 a 10% (m v^{-1}) com entrada na parte superior do sistema de introdução de amostras multi-modo (*Multi-mode Sample Introduction System - MSIS*). No segundo canal foram interligados duas junções, uma antes da bomba peristáltica e outra posterior à bomba peristáltica, cada uma delas com duas entradas e uma saída (conexão tipo - T), para aspirar simultaneamente a amostra e uma solução de HCl 10 mol L^{-1} . Para realizar o controle de fluxo da vazão de HCl , foi inserido um restritor (estrangulador) no canal de sucção da solução ácida. A mistura de amostra e solução de HCl é introduzida pela parte inferior da câmara MSIS. Dentro da câmara, a mistura amostra/ácido, reage com a solução de SnCl_2 , gerando o vapor de mercúrio que é transportado para a tocha sob fluxo constante de gás nitrogênio. Por fim, no terceiro canal é realizado o descarte das soluções em excesso no MSIS.

A reação dos íons de Sn^{2+} promove a redução dos íons de Hg^{2+} , levando-os a forma elementar, porém, formas orgânicas de mercúrio, como metil-Hg, não reagem com essa espécie do redutor. Nesse caso a solução de NaBH_4 é mais eficiente, pois consegue promover a redução das espécies inorgânica e orgânica de mercúrio.

A solução de SnCl_2 foi empregada como agente redutor, pois as matrizes de investigadas neste trabalho são essencialmente minerais, não apresentando espécies orgânicas de mercúrio.

A Tabela 3 apresenta as condições operacionais do equipamento, operado sob as recomendações do fabricante.

Figura 7. Adaptação no MSIS com bomba peristáltica de 3 canais.



Fonte: Autor

Tabela 3. Condições Operacionais para a determinação de Hg por MIP OES.

Parâmetros	Hg
Comprimento de Onda (nm)	253,65
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de Nebulização	<i>Multi-mode Sample Introduction System</i>
Velocidade da Bomba (rpm)	15
Pressão do Nebulizado (kPa)	80
Posição de Visualização (mm)	0
Tempo de Leitura (s)	5
Número de Replicatas	3
Tempo de Estabilização (s)	15
Tempo de Captação (s)	25
Curva Analítica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,0 – 30,0
Fluxo de Nitrogênio (L min^{-1})	22,5
Fluxo de Amostra (mL min^{-1})	9,0
Fluxo HCl 10 mol L^{-1} (mL min^{-1})	2,5
Fluxo Redutor - SnCl_2 10% (mL min^{-1})	2,5

Os teores de mercúrio nos extratos amostrais de fertilizantes minerais foram quantificados também pelo espectrômetro de absorção atômica Varian, modelo Spectra AA 200 FS acoplado ao gerador de hidretos Varian, modelo VGA 77, conforme configurações operacionais descritas na Tabela 4.

Tabela 4. Condições Operacionais para a determinação de Hg por CV-AAS.

Parametros Instrumentais	Hg
Comprimento de Onda (nm)	253,7
Intensidade da Lâmpada (mA)	4,0
Replicatas por Leitura	3
Curvas de Calibração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,0 – 30,0
Tipo de Lâmpada	HCL*
Fluxo de Amostra (mL min^{-1})	9,0
Fluxo HCl 10 mol L^{-1} (mL min^{-1})	2,5
Fluxo Redutor - SnCl_2 10% (mL min^{-1})	2,5

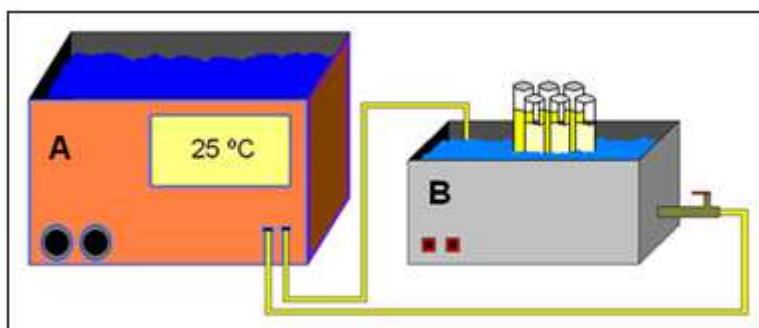
*Hallow Cathod Lamp – Lâmpada de catodo oco

A concentração dos metais presentes nos extratos amostrais de óleo de soja foi determinada por voltametria redissolução anódica por onda quadrada (SWASV – *Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry*), utilizando um potenciosísmo da marca Metrohm, modelo µAutolab Tipo III, gerenciado pelo software GPES.

Para o estudo de extração de Hg nas amostras de fertilizantes minerais empregou-se banho de ultrassom CTA Ultrasonic Systems, modelo Hsl-600 operando em frequência de 40 kHz e potência de 200 W.

Um banho de ultrassom da marca Unique, modelo T50220, operando com 40 kHz de frequência e potência de 200 W foi utilizado no estudo de extração simultânea de Cu, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr em amostras de fertilizantes minerais. Acoplou-se ao banho ultrassônico um banho termostatizado da marca MarqLabor, modelo MarqBut 10, para manter constante as temperaturas durante o tratamento das amostras, conforme apresentado na Figura 8.

Figura 8. Banho termostatizado (A) acoplado no banho ultrassônico (B)



Fonte: Autor

Utilizou-se uma centrífuga para separação dos particulados em suspensão nos extratos, da marca FTR, modelo 24BT SIMPLEX II, com capacidade para 24 tubos de até 15 mL.

As extrações do óleo de soja foram realizadas empregando extrator de óleos e graxas da Marca MARCONI, modelo MA 491.

Para calcinação das amostras de óleo, empregou-se um forno mufla da marca ZEZIMAQ, modelo 2000-B. Cadinhos de platina, com volume cúbico ao redor 15 mL foram utilizados para acondicionar as amostras.

Para desidratação dos tecidos foliares das plantas de soja, utilizou-se uma estufa de ventilação forçada, marca New Lab, modelo NL 82/27, ajustada para 50 °C. As amostras de folha desidratadas foram trituradas em moinho de facas do tipo Willye da marca FORTINOX, modelo Star FT 50.

As amostras de tecidos foliares e farelos desengordurados foram digeridas em bloco digestor da marca MARCONI, modelo 4025, para extração dos metais de interesse presentes na matriz.

Todos os valores de LD e LQ, foram calculados segundo a IUPAC ($LD = 3s_B/a$ e $LQ = 10s_B/a$) onde ' s_B ' é o desvio padrão relativo a 10 medidas branco analítico e ' a ' é o coeficiente angular da curva de calibração.

3.3 Soluções e Reagentes

Toda água utilizada nas etapas analíticas, desde a limpeza de matérias até o preparo de soluções, foi obtida pelo tratamento de osmose reversa e desionização utilizando o equipamento Gehaka-Master-System, Model OS 20LX, apresentando condutividade inferior a $0,03 \mu\text{S cm}^{-1}$.

As curvas de calibração dos metais analisados foram preparadas, partindo de solução referência estoque de 1000 mg L^{-1} em HNO_3 0,3 mol L^{-1} Titrisol® (Merck, Darmstadt, Alemanha) Os demais reagentes empregados nas análises eram de grau analítico do tipo PA-ACS.

3.4 Preparo dos vasos de estudo

Foram preparados 6 vasos para o cultivo de soja em vasos com dimensão de 75cmx35cmx35cm (CxLxA), identificados de acordo com o tratamento realizado em cada um, conforme apresentado na Figura 9.

Figura 9. Preparo dos vasos para cultivo da soja



Legenda: (A) Vaso, (B) Terra empregada no cultivo, (C e D) distribuição dos 6 vasos. **Fonte:** Autor

O solo utilizado no preenchimento dos vasos foi submetido à análise físico-química de fertilidade para a realização das devidas correções nutricional, previamente ao plantio da soja.

A espécie de semente de soja utilizada neste estudo foi adquirida no Instituto Agronômico de Campinas, denominada como IAC Foscarin-31, é considerada uma espécie precoce, ou seja, a maturação dos grãos se inicia ao redor dos 90 dias decorridos do plantio. As sementes de soja receberam um tratamento prévio com inoculante sólido turfoso, específico

para soja, da marca Masterfix, produzido pela empresa Stoller do Brasil LTDA, contendo as bactérias *Bradyrhizobium elkanii* e *Bradyrhizobium japonicum*, em uma proporção de 1 grama de material turfoso em 20 mL de solução de sacarose a 5 % ($m\ v^{-1}$) para 500 gramas de sementes. O inoculante tem como função desenvolver as bactérias nas raízes das plantas de soja, para auxiliar no processo bioquímico de fixação do nitrogênio atmosférico no tecido vegetal, isentando a cultura de adubação a base de nitrogênio.

Após o devido preparo de cada vaso, análise química de fertilidade e tratamento das sementes, foi realizado o plantio da soja, com uma distância de 5 cm entre cada semente na mesma linha, com uma distância de 20 cm entre cada linha, conforme apresentado na Figura 10.

Figura 10. Plantio das sementes de soja.



Fonte: Autor

Depois do plantio das sementes, foram aguardados 15 dias para que as sementes viessem a emergir, e então, fossem realizados os tratamentos isolados em cada vaso.

- Vaso 1 (Controle): Adicionado 40 gramas fertilizante mineral NPK+Micros (10.10.10 + Micros), 15 dias antes do plantio das sementes.
- Vaso 2: Adicionado 5 litros de solução $50\ mg\ L^{-1}$ de Pb e Cd.
- Vaso 3: Adicionado 5 litros de solução $100\ mg\ L^{-1}$ de Pb e Cd.
- Vaso 4: Adicionado 5 litros de solução $250\ mg\ L^{-1}$ de Pb e Cd.
- Vaso 5: Adicionado 5 litros de solução $500\ mg\ L^{-1}$ de Pb e Cd.
- Vaso 6: Adicionado 5 litros de solução $1000\ mg\ L^{-1}$ de Pb e Cd.

Nos vasos de 2 a 6 foram adicionados 2 L de solução com $4\ g\ L^{-1}$ de KH_2PO_4 para a devida complementação de P e K no solo. Em todos os vasos foram adicionados 2 L de uma solução contendo $200\ mg\ L^{-1}$ de cobre, por se tratar de um micronutriente essencial ao desenvolvimento das plantas de soja, além de ser um metal de fácil detecção por diferentes técnicas analíticas.

O tempo de cultivo perdurou por 120 dias, desde o plantio até a coleta dos grãos. Ao final de 70 dias, foram coletadas as amostras de folhas dos vasos remanescentes, para os

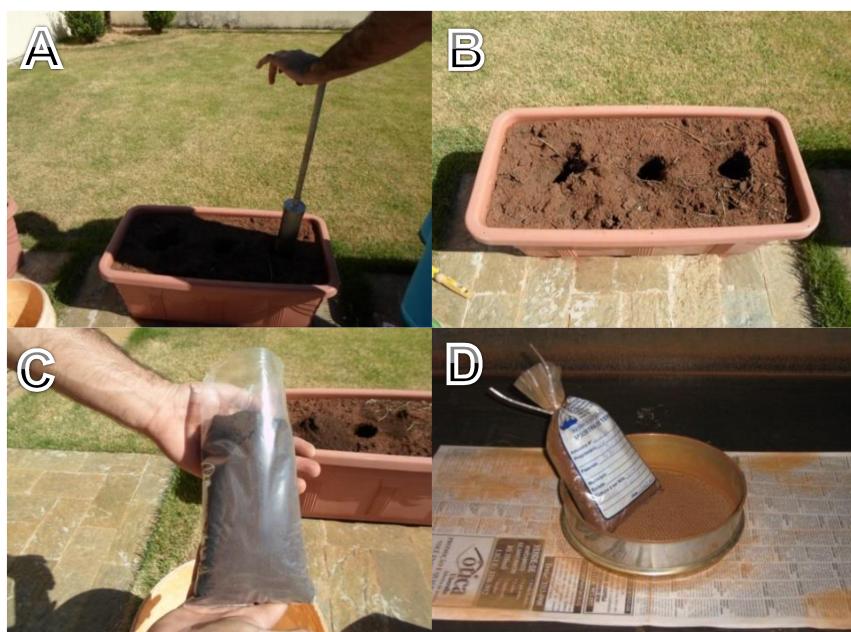
ensaios analíticos nos tecidos foliares. Durante todo o período de cultivo, os vasos foram irrigados diariamente, para manter o teor de umidade ideal exigido pela cultura.

3.5 Coleta e preparo das amostras de solos.

A amostra de solo foi coletada em 3 pontos distintos em cada vaso, com utilização de sonda e homogeneizada, conforme ilustrado pela Figura 11.

Na sequência, com auxílio de uma peneira 10 mesh (abertura 2,00 mm), a amostra foi peneirada e seca a temperatura ambiente, adquirindo a característica de Terra Fina Seca ao Ar (TFSA) [120].

Figura 11. Coleta de Amostra de Solos.



Legenda: (A) Coleta com Trado, (B) Três pontos de coleta por vaso, (C) Acondicionamento em embalagem específica, (D) Preparo da Amostra. **Fonte:** Autor

3.6 Coleta e preparo das amostras de tecidos foliares.

Após os 70 dias do plantio, foram coletadas, aleatoriamente, 25 folhas de soja de cada vaso, para avaliação dos teores de Cu, Pb e Cd.

Inicialmente, as folhas foram lavadas com água deionizada e levadas para estufa com ventilação forçada, ajustada para 50 °C, por um período de 24 horas. Com o processo de desidratação dos tecidos foliares concluído, as mesmas foram cominuídas em moinho de facas do tipo Willye, conforme apresentado na Figura 12.

Figura 12. Amostra de tecido foliar desidratada e moída.



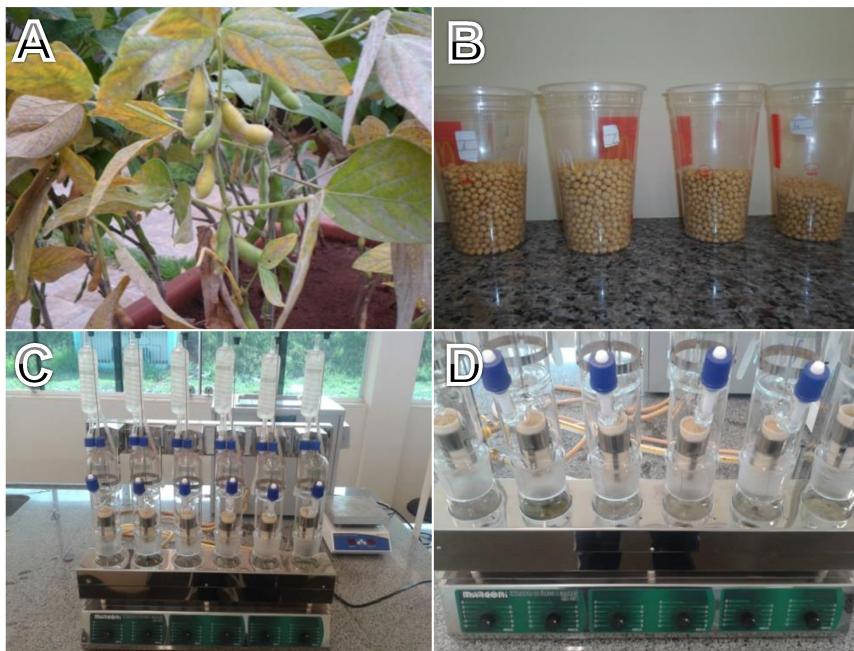
Fonte: Autor

3.7 Coleta e preparo das amostras de óleo e farelos desengordurados.

Ao final de 120 dias do plantio, com a maturação completa dos grãos, foi possível realizar as coletas dos materiais para a extração do óleo da soja.

Inicialmente debulharam-se os grãos da vagem e sequencialmente particionaram-se os grãos em um liquidificador comum, do tipo doméstico, para aumentar a superfície de contato com hexano, responsável pela extração do óleo contido na soja. As amostras foram acondicionadas no extrator de óleos e graxas, onde permaneceu em recirculação com o solvente por um período de 8 horas, com temperatura ajustada para 80 °C, conforme apresentado na Figura 13.

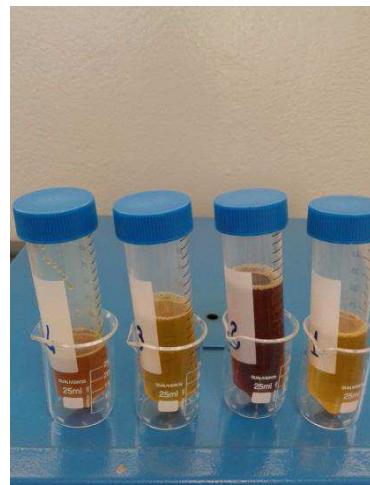
Figura 13. Coleta dos grãos de soja e extração do óleo



Legenda: (A) Grão de soja em processo de maturação, (B) Grão de soja maduro e coletado, (C e D) Extração do óleo em extrator de óleos e graxas. **Fonte:** Autor

Ao final, as amostras de óleo foram levadas à estufa por 3 horas a uma temperatura de 105 °C, para eliminação de possíveis resquícios de hexano e/ou água, obtendo as amostras apresentadas na Figura 14.

Figura 14. Amostras de Óleo de Soja.



Fonte: Autor

O farelo resultante do processo de extração do óleo foi levado à estufa com ventilação forçada com temperatura ajustada para 100 °C, por um período de 24 horas. Sequencialmente as amostras de farelo desengorduradas foram cominuídas em moinho de facas do tipo Willye, conforme apresentado na Figura 15.

Figura 15. Amostras de farelo de soja desengordurado e moído.



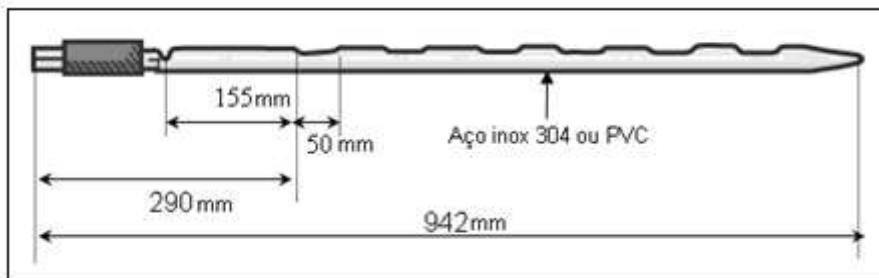
Fonte: Autor

3.8 Coleta e preparo da amostra de fertilizante mineral.

Para a realização da coleta das amostras de fertilizantes seguiu-se o procedimento do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através da Instrução Normativa Nº 10 de 06 de maio de 2004, que estabelece as normas para amostragem de fertilizantes sólidos e fluidos.

A coleta de amostras de fertilizantes sólidos deve ser feita com sonda dupla perfurada de ponte cônica que pode ser de PVC ou aço inox, tomando-se frações retiradas das embalagens dos mesmos, que serão reunidas, homogeneizadas e quarteadas. A Figura 16 apresenta as dimensões da sonda de coleta de fertilizantes.

Figura 16. Sonda de coleta de fertilizante



Fonte: Península Fertilizantes [121]. **Adaptação:** Autor

A sonda foi introduzida na válvula de saída da sacaria de 50 kg de um fertilizante mineral NPK+Micros (10.10.10 + Micros), com a embalagem em posição horizontal em relação ao solo. A porção coletada foi pulverizada em gral, até que todo o conteúdo coletado passasse em peneira com abertura de 0,5 mm (Tyler 32).

3.9 Análise do solo

Todos os procedimentos de análises de solos apresentados a seguir, são referenciados na metodologia adotada pelo IAC [120].

3.9.1 Análise granulométrica

A análise física, também conhecida como análise granulométrica, é a quantificação dos teores percentuais das partículas de areia total, silte e argila presentes no solo. Pesou-se uma massa de 10 gramas de TFSA em recipiente cônico de polipropileno e na sequência, adicionaram-se 50 mL de solução dispersante, composta por hexametafosfato de sódio 1% ($m\text{ v}^{-1}$) em solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L^{-1} e então se promoveu a agitação por 16 horas em mesa agitadora horizontal a 220 rpm.

Após as 16 horas, a amostra foi passada por peneira 270 mesh (abertura 0,053 mm), sob fluxo de água constante, para “lavar” toda a areia retida na peneira. O material filtrado foi transferido para uma proveta de 500 mL, e avolumado com água. O conteúdo reservado na proveta continha uma dispersão das partículas menores, silte e argila. O material retido na peneira trata-se da areia total presente no solo e a mesma foi transferida para placa de petri e levada à estufa 105 °C, até peso constante,

Com base na temperatura, aguardou-se o tempo de decantação das partículas de silte, de acordo com Quadro 3 apresentado no item 6 – Anexo, deste trabalho, para que

posteriormente fosse retirada uma alíquota de 10 mL do sobrenadante, de forma que a pipeta não seja introduzida a uma profundida superior a 5 cm [122]. A alíquota retirada foi levada a estufa a 105 °C até que a amostra apresente peso constante. Esse material representa o valor de argila presente na amostra.

Fez-se necessário conduzir ensaio com prova em branco, pois ao secar a amostra em estufa, o residual dos sais que constituem a solução dispersante apresenta um acréscimo à massa de argila.

Considerando que a totalidade do solo é constituída por partículas de areia, silte e argila com traços de material orgânico, como pequenas raízes, o valor percentual de silte pode ser obtido pela diferença entre o somatório dos teores percentuais de areia e argila subtraído de 100.

3.9.2 Análise de pH e Acidez Potencial

Para a análise de pH foi tomada uma alíquota de 10 cm³ de TFSA, com o auxílio de um cachimbo cilíndrico e transferido para copo cônico de polipropileno juntamente com 25 mL de solução de cloreto de cálcio 0,01 mol L⁻¹ e então aguardou-se 15 minutos para que na sequência promovesse a agitação durante 5 minutos em mesa agitadora horizontal a 220 rpm. Após 30 minutos de repouso foi realizado a leitura em pHmetro.

Sequencialmente, foi adicionado 5 mL de solução tampão SMP (**Shoemaker, Mc Lean & Pratt**) e novamente agitado por 15 minutos. Depois 1 hora de repouso, for realizada nova leitura no pHmetro, para a devida conversão para o valor de acidez potencial (H+Al) equivalente. A solução de SMP foi preparada solubilizando em um balão de 1 L, 3,6 g de p-nitrofenol dissolvidos em 100 mL de água destilada previamente aquecida a 70 °C, 6,0 g de K₂CrO₄ e 106,2 g de CaCl₂.2H₂O, elevando-se o volume para, aproximadamente, 500 mL com água destilada. Agitou-se a mistura por 15 minutos e em seguida foram adicionados 4,0 g de acetato de cálcio previamente dissolvidos em 300 mL de água destilada. A solução foi agitada por mais 10 minutos e adicionados 5 mL de trietanolamina. Ao final, ajustou-se o pH para 7,5 e completou-se o volume com água destilada

3.9.3 Análise de Matéria Orgânica

Para a determinação do teor de matéria orgânica na amostra de solo, foi empregado o método tradicional de Walkley & Black [123], que se baseia na oxidação do carbono orgânico presente no solo empregando uma solução de dicromato de potássio concentrado em presença de ácido sulfúrico concentrado.

Pesou-se uma massa de 0,5 gramas de TFSA e transferiu para um erlenmeyer de 125 mL, sequencialmente adicionou-se 5 mL de solução de dicromato de potássio 0,3 mol L⁻¹ juntamente com 10 mL de ácido sulfúrico concentrado.

O calor liberado pela reação fortemente exotérmica, aliado ao poder oxidante do íon dicromato, é suficiente para promover toda oxidação do material orgânico presente na amostra de solo. Após o resfriamento da mistura foram adicionados 100 mL de água destilada e em seguida filtrada a mistura. Posteriormente à filtração, adicionou-se 10 mL de ácido fosfórico concentrado e 5 gotas de solução ácida de difenilamina e prosseguiu-se a titulação com solução de sulfato ferroso amoniacial 0,4 mol L⁻¹ do íon dicromato remanescente em solução. Trata-se de uma titulação de retorno (método indireto), ou seja, com base na quantidade inicial de dicromato adicionado na amostra, e a quantidade remanescente em solução, é possível fazer a equivalência de carbono orgânico presente na amostra.

3.9.4 Determinação de Cálcio, Magnésio, Potássio e Fósforo.

De acordo com o procedimento oficial adotado pelo IAC, são empregadas resinas de troca iônica (resina aniônica Amberlite IRA 402 e resina catiônica Amberlite IR 120) em meio aquoso para a extração de Ca, Mg, K e P presentes em amostras de solos.

Para o pré-tratamento da amostra tomou-se uma alíquota de 2,5 cm³ de TFSA para copo cônico de polipropileno juntamente com 25 mL de água deionizada e uma esfera de vidro e então manteve agitação por 15 minutos em mesa agitadora horizontal a 220 rpm. Esse processo consiste em reduzir os tamanhos das partículas de solo.

Após a agitação retiraram-se as esferas de vidro e adicionou-se 2,5 cm³ de resina de troca iônica em cada amostra, para que novamente a agitação seja reestabelecida por um período de 16 horas.

Ao final do período de 16 horas, utilizou-se um separador de resina para a devida separação do solo e da resina, cujo equipamento, possui um sistema de peneiras que retém as resinas com o analito de interesse adsorvido e descarta o solo remanescente. Durante essa etapa a resina foi lavada com água deionizada e sequencialmente transferida para outro copo cônico de polipropileno com 50 mL de uma solução de NH₄Cl 0,8 mol L⁻¹ em HCl 0,2 mol L⁻¹ e deixada em repouso por 30 minutos para descarbonatação natural que ocorre nas resinas. Após esse período agitou-se por 1 hora, para que ocorresse a liberação dos analitos adsorvidos pelas resinas para a solução, obtendo um extrato inicial.

Os íons amônio realizam trocas com potássio, cálcio e magnésio adsorvidos pela resina, enquanto que os íons cloreto realizam trocas com os íons fosfatos. Uma vez em solução, puderam-se determinar esses analitos, empregando diferentes técnicas analíticas.

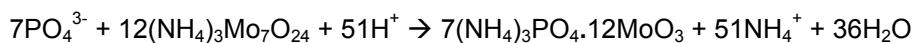
3.9.4.1 Determinação do Teor de Cálcio, Magnésio e Potássio.

O extrato inicial é diluído 10 vezes com água deionizada e em seguida é realizada a determinação instrumental, empregando espectrômetro de emissão atômica com plasma gerado por micro-ondas, conforme configurações apresentadas anteriormente na Tabela 2. Os valores de LD para Ca, Mg e K foram 9,1; 4,5; 8,9 µg L⁻¹ e o valores de LQ foram 30,2; 15,0;

29,6 µg L⁻¹, com curva de calibração preparada em meio eletrólito de NH₄Cl 0,8 mol L⁻¹ em HCl 0,2 mol L⁻¹, diluído 10 vezes, conforme diluição da amostra.

3.9.4.2 Determinação do Teor de Fósforo.

Transferiu-se uma alíquota de 2 mL do extrato inicial para um tubo de ensaio e adicionou-se 8 mL de uma solução constituída por molibdato de amônio 0,1 % (m v⁻¹), ácido sulfúrico 1,6 % (v v⁻¹), tartarato duplo de antimônio e potássio 0,004 % (m v⁻¹), ácido ascórbico 0,1 % (m v⁻¹) e gelatina incolor 0,06 % (m v⁻¹), responsável por promover a formação de um complexo de cor azul com ânions fosfato, conforme apresentado na reação química a seguir:



Após 15 minutos em repouso, realizou-se a leitura do extrato em espectrômetro UV-Vis com comprimento de onda ajustado para 660 nm, empregando cubeta de quartzo adaptada com fluxo contínuo, com caminho óptico de 1 cm. Os valores de LD e LQ para a determinação de fósforo em amostras de solos foram respectivamente 0,11 e 0,37 mg L⁻¹.

3.9.5 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio em amostras de solos

Para a análise dos micronutrientes e contaminantes são empregadas usualmente duas metodologias, uma aplicada pelo IAC e outra pela EMBRAPA. Pela metodologia adotada pelo IAC, é utilizada como extrator uma solução de DTPA-TEA (ácido dietilenotriaminopentaacético) 0,005 mol L⁻¹ com trietanolamina 0,1 mol L⁻¹ e 0,01 mol L⁻¹ de CaCl₂ ajustado para pH 7,30, enquanto que a metodologia utilizada pela EMBRAPA consiste em utilizar uma solução denominada MEHLICH, a qual é constituída por HCl 0,05 mol L⁻¹ e H₂SO₄ 0,0125 mol L⁻¹.

Empregando a metodologia adota pelo IAC, tomou-se uma alíquota de 10 cm³ de TFSA e transferiu-a para copo cônico de polipropileno juntamente com 20 mL de solução extradora DTPA e agitado por 1 hora em mesa agitadora orbital a 220 rpm, filtrando a mistura ao final deste período.

Paralelo a este experimento, conforme a metodologia da EMBRAPA, foi tomada uma alíquota de 5 cm³ de TFSA e transferida para copo cônico de polipropileno, no qual foram adicionados 50 mL de solução Mehlich-1 e agitado por 15 minutos em mesa agitadora orbital a 220 rpm. Essa solução foi deixada em repouso durante uma noite, para devida decantação dos particulados, e posteriormente fosse retirada uma alíquota do sobrenadante.

Ambos os extratos foram analisados para quantificação dos metais de Cu, Pb e Cd, por espectrometria de emissão óptica com plasma gerado por micro-ondas.

3.10 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio no Tecido Foliar e Farelo de Soja

Uma massa de 500 mg da amostra do material vegetal moído e desidratado foi transferida para tubo de digestão juntamente com 7 mL de uma solução nitro-perclórica 3:1. Os tubos foram acondicionados em bloco digestor e iniciou-se o aquecimento em 100 °C, elevando a temperatura em intervalos de 20 °C a cada 30 minutos, até se atingir 210 °C.

Ao final, com o material totalmente digerido, dilui-se o extrato para 25 mL e procedeu-se a leitura em espectrômetro de emissão atômica com plasma gerado por micro-ondas para a devida quantificação dos teores Cu, Pb e Cd, presentes nas amostras de tecido vegetal.

3.11 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio no Óleo de Soja

Pesou-se uma massa de óleo, conforme apresentado na Tabela 5, para cadiño de platina e em seguida acondicionou-se em forno mufla promovendo o aquecimento gradual, iniciando em 100 °C até 660 °C, na qual se manteve essa temperatura por 3 horas. Ao fim desta etapa, após o devido resfriamento, a cinza resultante foi diluída com 10 mL de uma solução de HCl 1,0 mol L⁻¹, obtendo assim o extrato inicial [124].

Tabela 5. Massa de amostra de óleo calcinada para determinação de Cu, Pb e Cd.

Amostra	Massa (g)
01	5,026
02	5,053
03	5,084
04	5,116

As determinações dos teores de Pb, Cd e Cu, conforme mencionado anteriormente no item 3.2, foram realizadas empregando a voltametria de redissolução anódica por onda quadrada (SWASV – *Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*).

Um eletrodo de carbono vítreo com diâmetro de 1,6 mm foi empregado como eletrodo de trabalho. Como referência, utilizou-se um eletrodo de Ag/AgCl (KCl saturado) [125] e como auxiliar um eletrodo de Pt. Inicialmente o eletrodo de trabalho foi polido com suspensão aquosa de alumina e sonicado por aproximadamente 2 minutos, para limpeza total da superfície do eletrodo. O condicionamento do eletrodo de trabalho para formação de um filme fino de mercúrio foi realizado aplicando um potencial de deposição de -0,8 V durante 300 segundos em uma solução de Hg 100 mg L⁻¹ em HCl 0,1 mol L⁻¹ [126]. Após a formação do filme, promoveu-se uma ciclagem em solução tampão acetato aplicando um potencial inicial de -0,8 V e um potencial final de -0,05 V, para estabilizar o filme e suprimir sinais oscilativos.

Do extrato inicial, foi tomada uma alíquota de 100 µL e adicionado 9,9 mL de eletrólito suporte, constituído de uma solução tampão acetato equimolar 0,1 mol L⁻¹, para a

determinação dos teores de metais presentes nas amostras. Foi empregada a técnica de adição de padrão e as condições da leitura das amostras são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6. Configurações operacionais do µAutolab Tipo III, gerenciado pelo software GPES, para determinação de Cu, Pb e Cd.

Parâmetros	Valores
----- Pré tratamento do eletrodo -----	
Potencial de Condicionamento	0,10 V
Tempo	30 segundos
----- Condições de Leitura -----	
Potencial Inicial	-0,8 V
Potencial Final	0,15 V
Degrau de Potencial	0,004 V
Amplitude	0,040 V

A partir dos voltamogramas obtidos, foram determinadas as áreas de cada pico, correlacionando-as com a respectiva concentração de padrão adicionado. Os resultados foram determinados empregando a extração da reta

3.12 Análise de fertilizantes minerais

3.12.1 Estudo de extração de Mercúrio em amostras de fertilizante mineral.

Foram realizados testes para avaliar o procedimento simplificado de extração de mercúrio em amostras de fertilizantes, empregando energia ultrassônica. As amostras foram analisadas pela metodologia oficial proposta pelo MAPA e os resultados foram confrontados com os obtidos pelo método proposto. Em caráter comparativo, foram empregadas duas técnicas instrumentais, CV AAS e MIP OES, para determinação de Hg nos extratos obtidos pelo tratamento ultrassônico.

3.12.1.1 Método oficial de preparo de amostra para determinação de mercúrio

Seguindo o procedimento analítico estabelecido pelo MAPA para determinação de mercúrio em amostras de fertilizante mineral, foi tomada uma alíquota de 2 g de amostra para um erlenmeyer de 250 mL, juntamente com 5 mL de água e 5 mL de água régia para a extração (solubilização) de mercúrio na amostra. Em seguida, o erlenmeyer foi tampado com um vidro de relógio para evitar perdas por volatilização e então promoveu o aquecimento da mistura em torno de 90 a 100 °C por aproximadamente 5 minutos. Após esfriar, foram adicionados mais 50 mL de água e 15 mL de uma solução de KMnO₄ a 5% (m/v), para garantir a oxidação de outras formas de mercúrio para a forma iônica Hg²⁺, levando novamente amostra ao aquecimento nas mesmas condições por 30 minutos. Após essa etapa, ao esfriar, foram adicionados 6 mL de uma solução de NH₂OH.HCl 10% (m/v) para reduzir o excesso de permanganato e outros 50 mL de água deionizada.

3.12.1.2 Proposta de método para extração de mercúrio com energia ultrassônica

Para o tratamento das amostras, foram empregados 4,0 mL de uma solução de ácido clorídrico 30 % (v v⁻¹), equivalente a 3,6 mol L⁻¹, para tratar 150 mg de amostra em tubo de vidro com capacidade para 15 mL, durante 5 minutos de sonicação em banho de ultrassom sem aquecimento, na região de maior intensidade de cavitação do banho, mapeada previamente [15].

Após a etapa de extração, as amostras foram diluídas para 10,0 mL com água deionizada, e em seguida os extratos foram centrifugados, para separação de um alíquota isenta de particulados.

A determinação dos teores de mercúrio presentes nos extratos foi realizada empregando a espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS) e espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES).

3.12.2 Método oficial de preparo de amostra para determinação de Cu, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr

Conforme procedimento analítico proposto pelo MAPA, pesou-se uma massa de amostra 1,0 g da amostra de fertilizante mineral e transferiu-a para erlenmeyer de 250 mL, adicionando 10 mL de HCl concentrado e 2,5 mL de HNO₃ concentrado. Após a adição do ácido, a amostra foi conduzida à chapa quente, deixando ferver a mistura até próximo à secura, sem deixar que o resíduo se queimasse. Ao final, adicionou-se mais 20 mL de uma solução de HCl 1:5 (v v⁻¹) e aqueceu-se até a fervura por alguns segundos. Filtrou-se então o extrato com papel de porosidade média, lavando o recipiente com porções de água deionizada. O extrato

inicial foi diluído para balão volumétrico de 100 mL, com água deionizada. Em seguida, procedeu-se a leitura em MIP OES.

3.12.3 Proposta de método para extração simultânea de metais empregando energia ultrassônica e aquecimento

O procedimento de extração assistida por ultrassom consistiu em adicionar 4,0 mL da solução extratora ácida em 150 mg de cada amostra contida num tubo de ensaio de vidro com capacidade para 15 mL, sonicando cada uma delas em intervalos de tempo de 5, 10 e 30 minutos, com variação de temperatura de 25, 50 e 85 °C para cada tempo de sonicação, conforme sequência experimental apresentada no Quadro 1. Ao final do processo de sonicação, os extratos foram diluídos para 10 mL com água deionizada e então centrifugados, para separação de material particulado em suspensão. Ao final os extratos foram analisados no MIP OES.

Quadro 1. Planejamento experimental para extração acelerada de Cu, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr.

Solução Extratora Ácida	Soniceração (minutos)	Temperatura (°C)
HCl 50 % (v.v ⁻¹)	5	25
		50
		85
	10	25
		50
		85
	30	25
		50
		85
HNO ₃ 50% (v.v ⁻¹)	5	25
		50
		85
	10	25
		50
		85
	30	25
		50
		85

CAPÍTULO 4

4. Resultados e Discussões

4.1 Análises do solo

4.1.1 Análise de Fertilidade do solo

A Tabela 7 apresenta os resultados encontrados nas análises de estudo de fertilidade do solo, antes de receber qualquer tipo de tratamento químico.

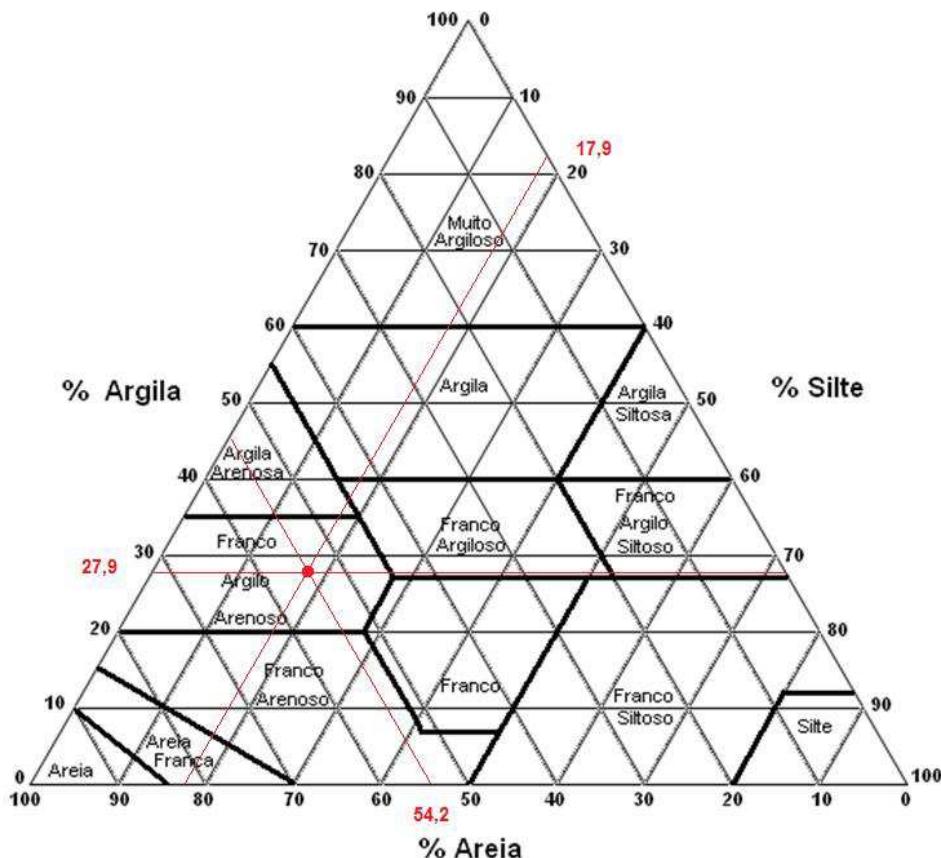
Tabela 7. Resultados analíticos do estudo de fertilidade do solo empregado nos vasos.

pH	*MO $g kg^{-1}$	Ca ----- $mmol_{c} dm^{-3}$ -----	Mg -----	K -----	H+Al -----	P $mg dm^{-3}$	Areia ----- $g kg^{-1}$ -----	Silte -----	Argila -----
5,57	38,3	29,0	12,0	1,3	20,0	5,8	542	179	279

*MO: Matéria Orgânica

Empregando o triângulo textural, apresentado na Figura 17, classificou-se o solo como Franco Argilo Arenoso.

Figura 17. Triângulo de classificação textural (Granulométrica) do solo



Fonte: CAMARGO et al. [122]. Adaptação: Autor

Essa classificação é importante, pois solos com características arenosas apresentam maior probabilidade de lixiviação de nutriente e menor capacidade de retenção de água. Esses fatores devem ser considerados ao programar um cultivo e realizar as correções nutricionais dos mesmos. Para a previsão de correção do solo utilizando o calcário, foi necessário calcular o valor percentual de saturação por bases (V%) do solo. O cálculo foi realizado conforme apresentado na equação a seguir.

$$V\% = \frac{SB}{CTC} \times 100$$

Onde:

SB = Soma das Bases

CTC = Capacidade de Troca Catiônica

Os valores de SB e CTC são calculados de acordo com as equações a seguir.

$$SB = [Ca] + [Mg] + [K]$$

$$CTC = SB + [H + Al]$$

O V% da amostra de solo utilizada neste trabalho foi igual a 68,6%. O V% está relacionado ao percentual de cargas negativas dos coloides do solo, normalmente compostos por argilominerais, que interagem com íons de K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} e Na^+ , que por sua vez são passíveis de troca com as raízes das plantas. Quando o índice de V% é muito baixo, normalmente inferior a 40%, verifica-se que há pequenas quantidades de cátions, como Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+ , saturando as cargas negativas dos coloides e que a maioria delas está sendo neutralizada por H^+ e Al^{3+} [127]. Valores baixos de V% são um indicativo de solo com baixa fertilidade e com necessidade de utilização de calcário, para aumentar os teores de cálcio e magnésio e diminuir os teores disponíveis de H^+ e Al^{3+} .

Conforme os resultados obtidos no estudo de fertilidade do solo empregado nos vasos, foi possível realizar o devido ajuste nutricional para garantir o bom desenvolvimento das plantas de soja. Os teores médios dos nutrientes presentes no solo para o crescimento adequado das plantas de soja são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Parâmetros dos solos adequados para o cultivo de soja.

pH	Ca ----- <i>mmol_c dm⁻³</i> -----	Mg ----- <i>mmol_c dm⁻³</i> -----	K ----- <i>mg dm⁻³</i> -----	P ----- <i>mg dm⁻³</i> -----	Cu ----- <i>mg dm⁻³</i> -----	V % ----- %
5,1 - 5,5	21 – 40	6 – 10	1,6 - 3,0	16 - 40	> 5,0	51 – 70

Fonte: VITTI & TREVISAN [128]. Adaptado: Autor

Em função das características do solo (Tabela 7), foi realizada adição de insumos, com o intuito principal de aumentar o teor de fósforo e potássio no solo. As adições dos sais foram realizadas de forma que o teor de fósforo ficasse próximo de 40 mg dm^{-3} e do potássio próximo a $2,9 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$. O volume cúbico de cada vaso é de aproximadamente 90 dm^3 , no entanto, considera-se que as radicelas das plantas de soja atuam efetivamente na absorção de nutrientes na faixa superficial do solo até no máximo 20 cm de profundidade. Considerando essa situação, o volume cúbico de solo em cada vaso, alvo de correção nutricional, passou a ser de $52,5 \text{ dm}^3$ ($75 \times 35 \times 20 \text{ cm}$). Assim sendo, foi necessário realizar um incremento de 34 mg dm^{-3} de P e $1,6 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de K no solo utilizado para o cultivo de soja.

Exclusivamente no vaso 1 (controle), foi adicionado o fertilizante mineral NPK+Micros ($10.10.10 + 0,5\% \text{ Zn} + 0,2\% \text{ Mn} + 0,2\% \text{ Cu} + 0,08\% \text{ Mo} + 2\% \text{ B}$), 15 dias antes do plantio das sementes, para a devida solubilização e incorporação dos nutrientes no solo previamente ao plantio. Essa classe de fertilizante foi escolhida devido à probabilidade de maior concentração de elementos tóxicos como Pb e Cd, em sua composição, conforme avaliado em trabalhos anteriores, cuja as amostras avaliadas apresentaram teores Pb ao redor de 300 mg kg^{-1} , enquanto que o Cd apresentou teores próximos de 30 mg kg^{-1} [15].

Não foram adicionados insumos alcalinizantes, como calcários ou silicatos, pois tanto o pH, quanto os teores de Ca e Mg, se apresentaram dentro da faixa ideal para o cultivo de soja. O valor de V% foi um indicativo de bom nível de fertilidade do solo empregado.

Situações como perdas de nutrientes e metais tóxicos por lixiviação ou interferências metabólicas nas plantas que influenciaram na absorção desses elementos não foram mensurados neste trabalho.

4.2 Determinação dos teores de Cu, Pb e Cd em amostra de fertilizante empregando o método oficial

A amostra do fertilizante mineral NPK+Micros ($10.10.10 + 0,5\% \text{ Zn} + 0,2\% \text{ Mn} + 0,2\% \text{ Cu} + 0,08\% \text{ Mo} + 2\% \text{ B}$) empregada na correção nutricional do vaso 1 (controle) foi submetida à determinação analítica dos teores de Cu, Pb e Cd, para quantificar a carga destes metais adicionados ao solo. A garantia do teor de Cu é expressa na embalagem do fertilizante, porém, a análise foi realizada como forma de comparação com a especificação do fabricante.

Para determinação destes teores, foi empregado o método oficial, conforme foi descrito no capítulo 3, item 3.12.2. A Tabela 9 apresentam os resultados obtidos no ensaio analítico da amostra de fertilizante mineral empregada na fertilização do vaso 1 (controle).

Tabela 9. Resultados de metais na amostra NPK ($10.10.10 + \text{Micros}$) empregando o método oficial. (n=3)

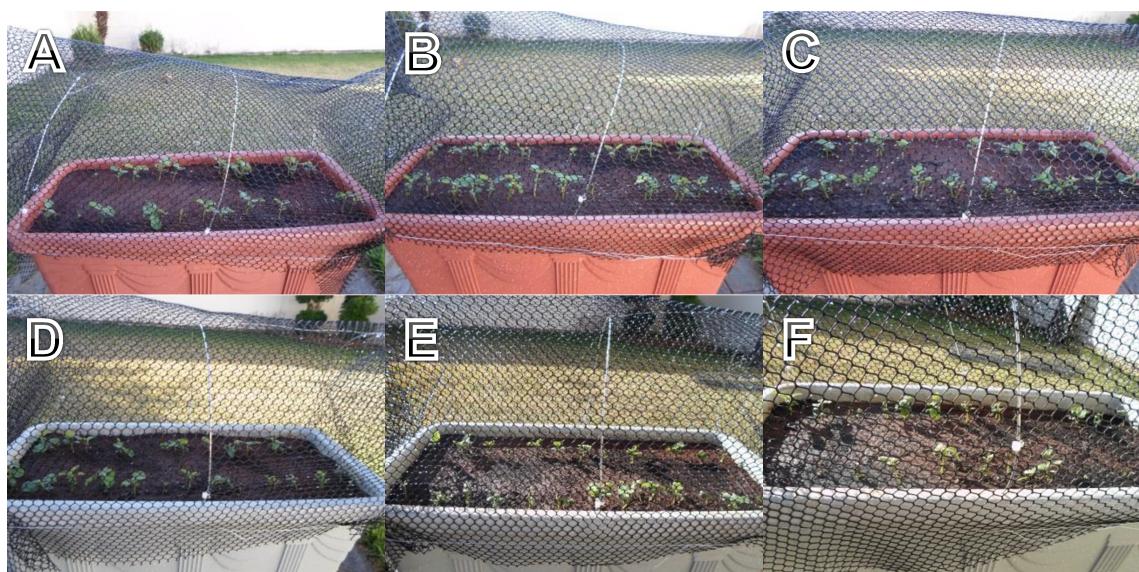
Cu – % (m m^{-1})	Pb – mg kg^{-1}	Cd – mg kg^{-1}
$0,22 \pm 0,01$	$13,5 \pm 0,3$	$6,2 \pm 0,1$

Considerando os valores dos teores de metais determinados na amostra de fertilizante e com base na a quantidade do NPK adicionado ao vaso 1 (controle), foi possível estimar o valor teórico de metais presentes no solo, conforme será apresentado a seguir na seção 4.4.

4.3 Preparo dos vasos de estudo

Dentre os 6 vasos preparados para o cultivo de soja, apenas em 4 deles foi possível obter amostras de tecido vegetal e óleo. Após os 15 dias de plantio das sementes, assim que as plantas emergiram, foram adicionados as soluções contendo as concentrações pré-definidas de Pb e Cd, nos vasos de 2 a 6. Nos dias subsequentes as plantas dos vasos 5 e 6 começaram a morrer. O conjunto de imagens apresentados na Figura 18 apresentam todos os vasos, 1 dia após receber a solução contendo os metais.

Figura 18. Vasos de estudo após 1 dia de adição de metais.



Legenda: (A) Vaso 1 (controle), (B) Vaso 2, (C) Vaso 3, (D) Vaso 4, (E) Vaso 5, (F) Vaso 6. **Fonte:** Autor

É possível observar na Figura 19, apresentada a seguir, que após 3 dias de aplicação, não há mais nenhuma planta em condição de crescimento no vaso 6 e no vaso 5, pois as plantas começaram a definhhar. Nestes vasos foram aplicados respectivamente, solução contendo 500 mg L^{-1} e 1000 mg L^{-1} de Cd e Pb.

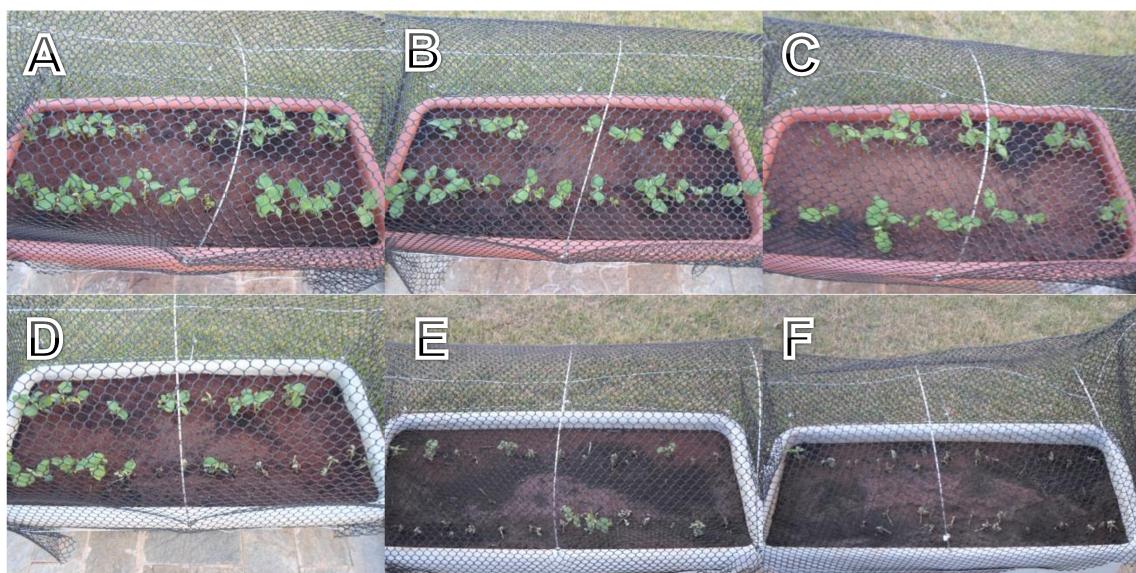
Figura 19. Vasos de estudo, após 3 dias de adição de metais.



Legenda: Imagens (A1 e A2) Vaso 5, (B1 e B2) Vaso 6. **Fonte:** Autor

Após 1 semana de aplicação da solução (Figura 20), todas as plantas do vaso 6 estavam mortas, enquanto que no vaso 5 haviam algumas plantas remanescentes, porém, nitidamente estavam perdendo vigor. A partir da primeira semana algumas plantas do vaso 4 começaram a morrer.

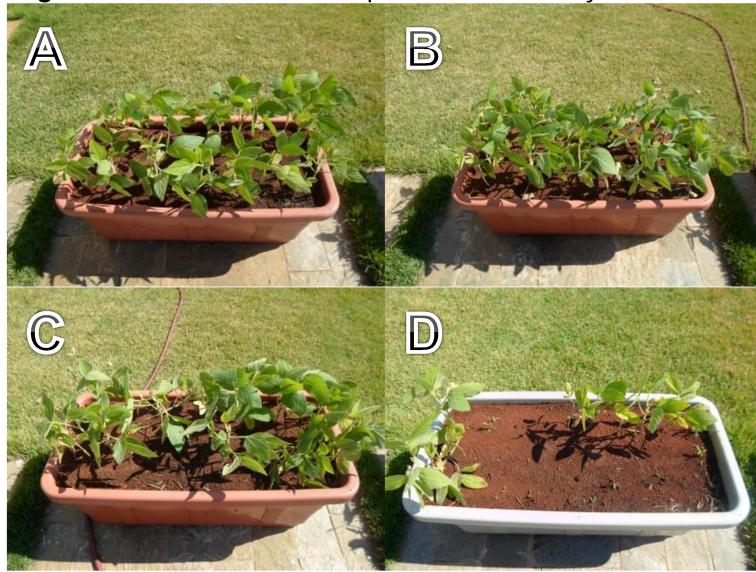
Figura 20. Vasos de estudo após 1 semana de adição de metais.



Legenda: (A) Vaso 1 Controle, (B) Vaso 2, (C) Vaso 3, (D) Vaso 4, (E) Vaso 5, (F) Vaso 6. **Fonte:** Autor

Após 20 dias de aplicação das soluções contendo os metais, as plantas dos vasos 2 e 3 apresentavam aspectos normais de crescimento e desenvolvimento. Praticamente todas as plantas do vaso 4 morreram, porém, ainda assim restaram plantas que resultaram em quantidade de material suficiente para as análises químicas, conforme ilustrado pela Figura 21.

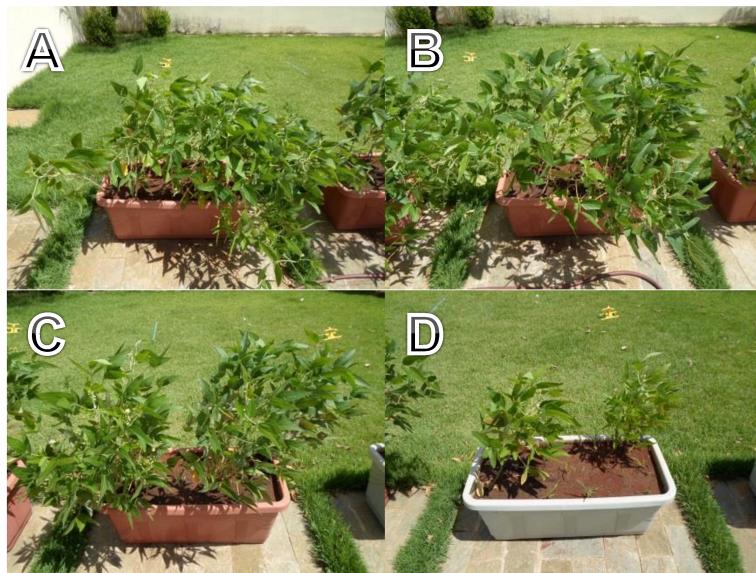
Figura 21. Vasos de estudo após 20 dias de adição de metais.



Legenda: (A) Vaso 1 Controle, (B) Vaso 2, (C) Vaso 3, (D) Vaso 4. **Fonte:** Autor

A floração da soja ocorreu entre 50 e 60 dias do cultivo, dessa forma, ao final de 70 dias do plantio (Figura 22), foi realizada a coleta das amostras de tecido foliar. Após ocorrer o período de floração e iniciar a formação das vagens a planta diminui significativamente a capacidade de absorção de elementos presentes no solo e se inicia o processo metabólico de desenvolvimento dos grãos, transferindo os elementos essenciais reservados na folha para o fruto em processo de formação [129].

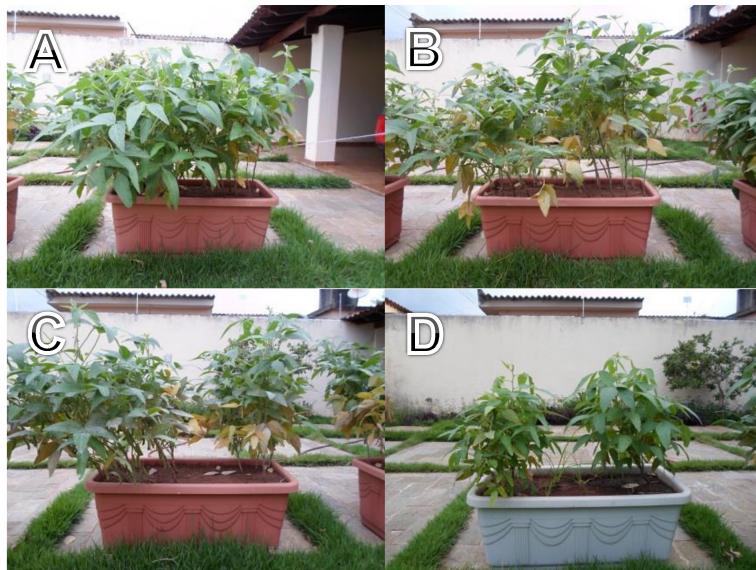
Figura 22. Vasos de estudo após 70 dias do plantio.



Legenda: (A) Vaso 1 Controle, (B) Vaso 2, (C) Vaso 3, (D) Vaso 4. **Fonte:** Autor

Ao redor de 95 dias do plantio, as folhas das plantas de soja, dos vasos 1, 2 e 3 começaram a amarelar e a vagem iniciou o processo de maturação. No entanto, observou-se que o vaso 4 ainda apresentava características de desenvolvimento das plantas e o ciclo de desenvolvimento das vagens não estava concluído, conforme ilustrado pela Figura 23.

Figura 23. Vasos de estudo após 95 dias do plantio.

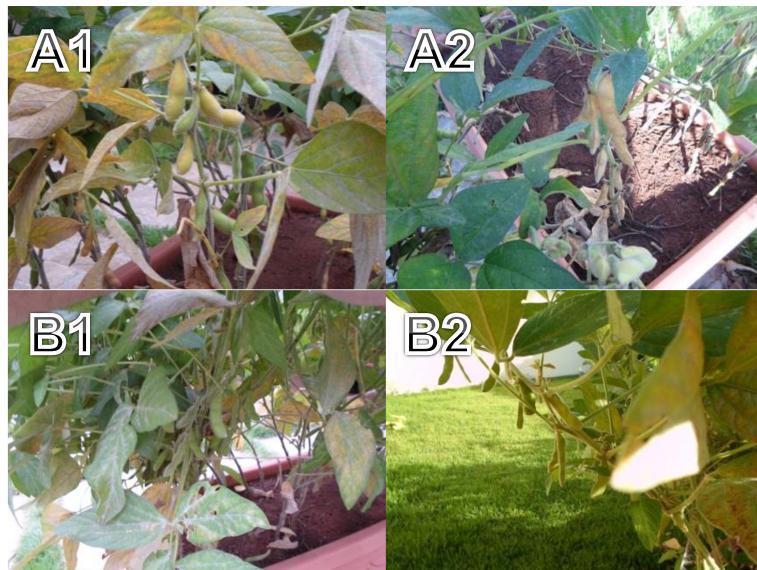


Legenda: (A) Vaso 1 Controle, (B) Vaso 2, (C) Vaso 3, (D) Vaso 4. **Fonte:** Autor

As condições para cultivo da soja devem ocorrer em período do ano com maiores incidências de chuvas e com o clima mais quente. É muito comum realizar o plantio dessas sementes ao final do mês de novembro.

O plantio dessas sementes foi realizado no mês de julho e as condições climáticas afetaram o desenvolvimento das plantas, no entanto, não pode ser descartada alguma mudança metabólica nas plantas devido à adição de metais nos vasos. O vaso 1, denominado controle, não recebeu qualquer dose das soluções contendo Pb(II) e Cd(II), e a vagem iniciou o processo de maturação, ao redor dos 95 dias de cultivo. Com 120 dias do cultivo, foi possível coletar as amostras de grãos dos vasos 1, 2 e 3, porém, no vaso 4, ainda foram necessários aproximadamente mais 25 dias, conforme ilustrado pela Figura 24.

Figura 24. Vasos de estudo após 95 dias do plantio.



Legenda: Imagens (A1 e A2) Vagens do Vaso 1 (Controle) e imagens (B1 e B2) Vagens do Vaso 4. **Fonte:** Autor

4.4 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio em amostras de solo.

Para determinação dos teores de metais nos extratos de solos empregando MIP OES, foram preparadas duas curvas de calibração distintas, ambas na mesma faixa de concentração, conforme apresentado anteriormente na Tabela 2 (Capítulo 3), porém, a diluição de uma das curvas de calibração foi realizada com solução extratora de DTPA, enquanto que a outra foi preparada com solução extratora Mehlich-1.

Apesar das curvas de calibração apresentar as mesmas concentrações, as equações das retas obtidas foram distintas. As soluções extratoras apresentaram diferenças em suas propriedades físico-químicas, o que influencia, por exemplo, na tensão superficial e viscosidade. Além disso, a diferença na densidade eletrônica dos compostos constituintes da solução extratora interfere na transferência de elétrons aumentando ou diminuindo a população de espécies ionizadas. Dessa forma, o processo de nebulização não ocorre da mesma maneira para as duas soluções extratoras. Essas diferenças nas composições químicas podem interferir ainda na temperatura do plasma e consequentemente no processo de atomização e emissão da radiação eletromagnética.

Os valores das equações obtidas quando diluída com solução DTPA são apresentadas a seguir:

$$\begin{array}{lll}
 (\text{Cu}) & y = 124358,00 X + 31,12 & R^2 = 0,9997 \\
 (\text{Cd}) & y = 11728,41 X + 35,89 & R^2 = 0,9988 \\
 (\text{Pb}) & y = 4089,36 X + 9,67 & R^2 = 0,9996
 \end{array}$$

Os valores das equações obtidas quando diluída com solução extratora Mehlich-1 são apresentadas a seguir:

$$\begin{array}{lll}
 (\text{Cu}) & y = 124852,77 X - 5806,05 & R^2 = 0,9999 \\
 (\text{Cd}) & y = 9413,21 X + 1880,57 & R^2 = 0,9989 \\
 (\text{Pb}) & y = 2863,12 X - 0,80 & R^2 = 0,9999
 \end{array}$$

A Tabela 10 apresenta os valores de LD e LQ para os metais analisados nas diferentes soluções extratoras empregadas.

Tabela 10. Valores de LD e LQ, expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$, para análises de metais empregando solução extratora de DTPA e Mehlich-1, medidas por MIP OES (Agilent 4100 MP AES).

Extrator	Cu		Pb		Cd	
	LD	LQ	LD	LQ	LD	LQ
DTPA-TEA	3,5	11,7	5,2	17,3	7,4	24,6
Mehlich-1	6,4	21,3	5,5	18,3	4,6	15,3

Inicialmente foi realizado o ensaio de apenas uma amostra, por se tratar do mesmo solo acondicionado nas 6 vasos, porém, ao final do cultivo, após a colheita dos grãos, foram analisadas amostras coletadas dos vasos de 1 a 4, uma vez que os vasos 5 e 6 não apresentaram material vegetal para avaliação do teor de metais extraídos do solo. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 11, 12, 13 e 14.

Tabela 11. Determinação de metais em amostra de solo empregando solução extratora de DTPA, antes do cultivo da soja (n=3).

Cu	Pb mg dm ⁻³	Cd
0,12 ± 0,02	<LD	<LD

<LD = Leitura no instrumento inferior a 5,2 e 7,4 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente para Pb e Cd.

Empregando a solução de DTPA como extrator de metais presentes no solo, foi possível detectar cobre na amostra de solo antes do plantio da soja, no entanto, os teores dos outros metais ficaram abaixo do limite de detecção.

Tabela 12. Determinação de metais em amostras de solos empregando solução extratora de DTPA, após cultivo da soja (n=3).

Amostra Solo	Cu	Pb mg dm ⁻³	Cd
01	0,91 ± 0,05	0,27 ± 0,05	0,19 ± 0,03
02	0,85 ± 0,08	1,09 ± 0,07	0,57 ± 0,06
03	0,97 ± 0,05	1,21 ± 0,04	1,43 ± 0,07
04	0,83 ± 0,06	1,77 ± 0,08	2,33 ± 0,15

Ao final do cultivo, após a colheita dos grãos de soja, o método empregando DTPA proporcionou a extração de Cu, Pb e Cd em concentrações superiores aos valores verificados antes do cultivo da soja. Foi reportado em outros trabalhos que a solução extratora de DTPA empregada na extração de metais no solo apresenta baixa eficiência na extração de alguns metais, tais como Cu e Pb [130, 131]. Portanto, avaliou-se também a solução de Mehlich-1, conforme apresentado nas Tabelas 13 e 14.

Tabela 13. Determinação de metais em amostras de solos empregando solução extratora de Mehlich-1, antes do cultivo da soja (n=3).

Cu	Pb mg dm ⁻³	Cd
0,44 ± 0,07	0,23 ± 0,02	<LD

<LD = Leitura no instrumento inferior a 4,6 µg L⁻¹ de Cd.

Empregando solução extratora Mehlich-1, obteve-se maior teor de Cu, além de ter sido possível quantificar também o Pb, corroborando com estudos prévios que indicaram a baixa eficiência de extração da solução de DTPA [130, 131]. Assim como ocorrido quando empregado solução extratora de DTPA, o teor de Cd não foi quantificado na amostra de solo antes do cultivo. Após o cultivo da soja, a solução extratora de Mehlich-1 extraiu maiores teores de Cu e Pb, enquanto que a solução de DTPA extraiu maior teor de Cd para as mesmas amostras de solo, com exceção apenas da amostra 4, que apresentou maior concentração quando extraído com solução Mehlich-1.

Tabela 14. Determinação de metais em amostras de solos empregando solução extratora de Mehlich-1, após cultivo da soja (n=3).

Amostra Solo	Cu mg dm ⁻³	Pb mg dm ⁻³	Cd
01	3,47 ± 0,21	2,17 ± 0,06	<LD
02	3,27 ± 0,25	4,00 ± 0,20	<LD
03	3,13 ± 0,25	4,87 ± 0,25	<LD
04	3,13 ± 0,15	5,93 ± 0,32	5,00 ± 0,15

<LD = Leitura no instrumento inferior a 4,6 µg L⁻¹ de Cd.

O método do IAC emprega a solução com característica quelante. O ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA) é um excelente agente ligante, e tem a capacidade coordenar metais disponíveis, ou seja, não ligados quimicamente a outras espécies presentes no solo, e é considerado o melhor método para avaliar teores de metais biodisponíveis no solo [44 – 46]. Ao contrário, a solução Mehlich-1, adotada pela EMBRAPA como solução extratora de metais no solo, apresenta característica ácida e segundo a literatura, possui a capacidade de solubilizar parcialmente minerais argilosos e compostos orgânicos presentes nos solos [47 – 51].

A princípio, acredita-se que o método por complexação seja capaz de representar melhor os teores de metais disponíveis no solo, no entanto, uma característica importante deve

ser considerada [44, 46]. A solução ácida Mehlich-1 consegue atuar na troca catiônica com metais adsorvidos pelos coloides inorgânicos (argilas), que poderiam ser absorvidos pelas raízes das plantas, devido à diferença do gradiente de carga do meio relacionados à CTC do solo [35, 47].

Com Mehlich-1, foi possível quantificar os teores de Cu, Pb e Cd nas amostras de solos após o cultivo de soja, porém, para este último metal, foi possível determinar sua concentração apenas no vaso 04. Os teores de Cu e Pb quantificados em extrato Mehlich-1 foram superiores aos encontrados no extrato com DTPA. Para Cd, apesar de quantificado apenas na amostra do vaso 04, o resultado obtido também foi superior quando comparado com DTPA. A característica ácida da solução Mehlich-1 pode ter favorecido na recuperação de maiores teores destes metais no solo.

Estudos comparativos entre as soluções extratoras apontaram que a solução Mehlich-1 apresentou maior valor de recuperação para Cu, quando comparado com solução extratora DTPA [35, 132]. Uma interpretação agronômica é necessária ao avaliar os níveis destes metais quando empregado os diferentes extratores. Ambos os extratores podem representar frações solúveis às plantas, porém, uma avaliação do conjunto das características físico-químicas do solo se faz necessária ao realizar esta interpretação. A solução Mehlich-1 pode extrair teores de metais no solo duas ou três vezes maiores quando comparados com a solução de DTPA [132, 133].

Os teores de metais no vaso 1 (controle) aumentaram ao final do cultivo, pois o fertilizante NPK+Micro empregado especificamente neste vaso apresentou em sua composição a presença destes 3 metais (Cu, Pb e Cd), conforme apresentado anteriormente nos resultados da Tabela 9, item 4.2. Nos demais vasos, foram aplicadas soluções contendo concentrações crescentes de Pb e Cd e concentração fixa de Cu. Outros trabalhos também indicaram um aumento no teor de metais, como Cu, Pb e Cd em solos, após a aplicação de insumos com a presença de metais contaminantes em sua composição [131, 134 - 136].

São duas situações distintas, pois a solução Mehlich-1 apresenta característica ácida, enquanto que a solução de DTPA-TEA, em pH neutro, possui propriedade quelante. Conforme apresentado na introdução deste trabalho, não é uma questão muito simples, entender o motivo de um extrator apresentar maior eficiência na remoção de um metal, em dadas condições, visto que a reatividade de cada metal, número de coordenação, estado de oxidação e a presença de outros componentes no solo que podem estar ligados aos metais podem influenciar diretamente na solubilidade deste metal no extrator químico empregado.

A solução extratora de DTPA-TEA possui características mais favoráveis para expressar os valores biodisponíveis de metais no solo para as plantas, quando comparado com a solução extratora Mehlich-1. A solução apresenta 3 condições ideais para avaliar a biodisponibilidade de um metal presente no solo, ou seja, pH neutro, agente quelante (ligantes polidentados) e a presença de um eletrólito neutro (CaCl_2).

O pH igual a 7,30 não influencia na solubilização de argilo minerais que podem conter metais em formas químicas indisponíveis a plantas. O DTPA-TEA é um agente quelante que

possui 8 grupos ligantes e tem a capacidade de complexar metais, em formas iônicas, com diferentes números de coordenação. A presença de CaCl_2 na solução faz com que o extrator possa simular uma troca catiônica com os sítios ativos das partículas coloidais do solo, responsáveis por adsorver metais no solo, devido à presença dos íons de Ca^{2+} .

A solução extratora Mehlich 1 é constituída pela presença de HCl e H_2SO_4 em concentrações diluídas. Além de possuírem a capacidade de solubilizar espécies minerais, os íons H^+ podem realizar intensa troca catiônica com as partículas coloidais do solo, liberando para solução espécies metálicas que estão fortemente adsorvidas e que, em condições normais, não participam da CTC do solo.

4.5 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio no Tecido Foliar e Farelo de Soja

A curva de calibração foi preparada em meio ácido semelhante ao empregado para o tratamento das amostras. Para tal, adicionaram-se 10 mL de solução digestora nitro-perclórica 3:1 para cada balão de 100 mL para o preparo das soluções padrão. Os valores das equações obtidas são apresentados a seguir:

$$\begin{array}{lll} (\text{Cu}) & y = 126537,81.X + 301,33 & R^2 = 0,9999 \\ (\text{Cd}) & y = 13354,07.X + 222,91 & R^2 = 0,9998 \\ (\text{Pb}) & y = 2779,98 X + 9,80 & R^2 = 0,9999 \end{array}$$

Os valores de LD para Cu, Pb e Cd foram, respectivamente, 2,9; 1,9 e 6,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, e os valores de LQ foram 9,7; 6,3 e 21,5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

O pré-tratamento das amostras de tecido foliar e farelos de soja desengordurados foram semelhantes. Uma mistura dos ácidos concentrados HNO_3 e HClO_4 na proporção 3:1 (v/v) foi empregada a ambas as amostras, com aquecimento em bloco digestor por aproximadamente 3 horas, para digestão total dos materiais. Ao final os teores foram determinados empregando MIP OES. Os resultados são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Determinação de metais em amostras de tecido foliar empregando solução extratora de $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (3:1) (n=3).

Amostra Foliar	Cu	Pb	Cd
	mg kg^{-1}		
01	$5,67 \pm 0,29$	$3,33 \pm 0,76$	<LD
02	$5,83 \pm 0,29$	$6,83 \pm 0,29$	$0,27 \pm 0,08$
03	$7,00 \pm 0,50$	$6,67 \pm 1,04$	$1,33 \pm 0,29$
04	$3,99 \pm 0,76$	$8,83 \pm 0,76$	$3,00 \pm 0,50$

<LD = Leitura no instrumento inferior a 6,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd.

Os teores Pb e Cd nas amostras de tecidos foliares apresentaram um comportamento crescente na concentração. Apesar da amostra do vaso 3 apresentar um valor sutilmente menor que a amostra do vaso 2, levando em consideração o desvio padrão da triplicata, é possível estimar uma tendência de aumento da concentração

De acordo com a IN nº 27 de 05 de Junho de 2006, Anexo I, o limite máximo permitido para Pb em uma classe de fertilizante semelhante ao empregado neste trabalho é de 1.000,00 mg Kg⁻¹. O teor de Pb determinado no fertilizantes está aquém do limite máximo permitido pela legislação, porém, os resultados remanescentes de Pb nas amostras vegetais são claras evidências que o fertilizantes pode oferecer riscos de contaminação de plantas até outros seres vivos. Dessa forma, a presença de Pb no vaso 1 pode ser considerado um problema, pois foi simulada uma condição usual de aplicação de insumo, ou seja, semelhante ao que é realizado em várias áreas agricultáveis por todo o país.

A determinação dos teores de metais presentes nas amostras de farelo foi realizada semelhante ao tratamento realizado nas amostras de tecido foliar. A Tabela 16 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 16. Determinação de metais em amostras de farelo de soja desengordurado empregando solução extratora de HNO₃:HClO₄ (3:1) (n=3).

Amostra Farelo	Cu	Pb	Cd
	----- mg kg ⁻¹ -----		
01	8,85 ± 0,25	<LD	<LD
02	7,68 ± 0,30	0,25 ± 0,05	<LD
03	9,08 ± 0,20	0,59 ± 0,11	0,20 ± 0,05
04	15,99 ± 0,75	0,99 ± 0,19	0,23 ± 0,06

<LD = Leitura no instrumento inferior a 1,9 e 6,5 µg L⁻¹, respectivamente para Pb e Cd.

As amostras de farelo desengordurado apresentaram teores elevados de Cu, quando comparados aos teores de Pb e Cd. A amostra de farelo do vaso 4, especificamente, foi a que apresentou a maior concentração de Cu. No vaso 4 apenas 2 plantas chegaram ao final do ciclo de maturação da soja e isso pode ter favorecido a maior absorção deste elemento pelas plantas, uma vez que neste vaso havia menos plantas para absorver Cu, quando comparado com os demais.

O monitoramento do Cu foi realizado neste trabalho como forma de verificar a mobilidade deste metal desde o solo até o óleo da soja. Por se tratar de um micronutriente essencial ao desenvolvimento da planta, o mesmo não possui características deletérias ao desenvolvimento das plantas, desde que não ultrapassado os limites recomendados para essa cultura. As plantas de soja tem a capacidade de exportar até 45 % do teor de cobre disponível

em solo para os grãos, desde que a disponibilidade de nutrientes esteja na dosagem correta e a taxa de umidade de solo em condições ideais [137], fato que justifica a maior concentração deste metal no farelo.

Ao contrário, os teores de Pb e Cd nas amostras de farelo desengordurados foram muito baixos, com valores próximos aos respectivos limites de detecção. Ao contrário, nos tecidos foliares, as concentrações foram relativamente altas, especialmente para o Pb. A taxa de transferência de Pb e Cd para os grãos de soja foi consideravelmente baixa, se comparado aos teores disponíveis no tecido foliar.

4.6 Determinação de Cobre, Chumbo e Cádmio no Óleo de Soja

O óleo extraído das sementes foi analisado após digestão das amostras em forno mufla. Os teores de metais presentes nos extratos digeridos foram determinados simultaneamente, empregando a técnica de voltametria de redissolução anódica por onda quadrada. Aliado ao tratamento adequado da amostra, a técnica SWASV com eletrodo modificado com filme de mercúrio pode ser aplicada para a determinação de vários metais, incluindo os estudados neste trabalho, em diferentes extratos ou digeridos amostrais, tais como amostras ambientais, alimentos e biológicas [138, 139].

Os valores de LD para Cu, Pb e Cd foram, respectivamente, 3,6; 4,3 e 5,8 ng L⁻¹, e os valores de LQ foram 11,9; 14,2 e 19,1 ng L⁻¹.

Foi empregada a técnica de adição de padrão, calculando a concentração dos teores de metais presentes na amostra pela extrapolação da reta. A área obtida de cada pico apresentado nos voltamogramas é proporcional à concentração de cada metal presente na amostra, dessa forma, foi realizada a interpolação dos pontos de área dos picos pela concentração de padrão adicionada em cada etapa. Os teores de metais apresentados na Tabela 17 foram obtidos pela extrapolação da reta.

Tabela 17. Determinação de metais, em amostras de óleo de soja empregando decomposição de amostra em forno mufla (n=3).

Amostra Óleo	Cu	Pb	Cd
	----- mg kg ⁻¹ -----		
01	0,60 ± 0,01	0,028 ± 0,001	<LD
02	0,77 ± 0,07	0,085 ± 0,001	0,063 ± 0,004
03	0,71 ± 0,06	0,157 ± 0,001	0,138 ± 0,005
04	4,9 ± 0,2	0,240 ± 0,004	0,330 ± 0,005

<LD = Leitura no instrumento inferior a 5,8 µg L⁻¹, para Cd.

Na seção Anexo, estão apresentadas as Figuras 25 a 32, que apresentam um conjunto de voltamogramas de uma das triplicatas realizadas para análise de cada amostra de óleo

após digestão, seguido dos gráficos de dispersão dos pontos com a respectiva correlação linear para curva de adição de padrão empregada para a determinação dos metais.

O teor de Cd na amostra 1 ficou abaixo do limite de detecção, conforme pode ser analisado pelo voltamograma da amostra 1, representado na Figura 25. Nas amostras de tecido foliar e farelo desengordurado também não foram detectadas traços de Cd. A concentração de Cd aumentou gradualmente nas amostras analisadas, de acordo com o aumento da concentração de metais adicionados inicialmente na etapa de plantio.

Os teores de Pb também seguiram uma tendência de aumento da concentração. Esse resultado de fato era esperado, uma vez que as doses de desses metais foram crescentes. Na amostra do vaso 1 (controle) não foi adicionado teores de metais, no entanto, foi empregado a utilização de fertilizante mineral, que por sua vez, apresentou teores de Pb em sua composição, conforme apresentado na Tabela 9 do item 4.2.

Os teores de Cu nas amostras do vaso 1, 2 e 3, foram próximos entre si, porém, na amostra 4, o valor foi significativamente maior, assim como observado na amostra de farelo desengordurado. Conforme justificado para o farelo desengordurado, esse fator pode ser atribuído à baixa competitividade das plantas por esse metal, uma vez que apenas duas plantas de soja, persistiram até o final do cultivo.

A presença de Cu, Pb e Cd, entre outros metais, em matrizes como o óleo de soja pode oferecer riscos à saúde humana, quando em níveis tóxicos, considerando sua ampla aplicação na indústria alimentícia. A portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998 emitida pelo Ministério da Saúde e Secretaria de Vigilância Sanitária faz menção que teores de Pb em amostras de óleo, gorduras e emulsões refinadas não devem ser superiores a $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$. Outra legislação, porém, abordada de maneira ampla é o decreto nº 55.871 de 26 de março de 1965 emitido pela Presidência da República que aponta que oleaginosas não podem apresentar teores superiores a $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$, no entanto, não é referenciado se esses limites se restringem a folhas, grão ou óleo. Em nenhuma das duas legislações consultadas é mencionado os limites máximos tolerados de Cd em amostras óleo ou em plantas oleaginosas.

Deveras, a presença de metais em óleo de soja pode representar um risco à saúde humana, além de acelerar o processo de degradação e/ou oxidação do material [45]. Metais como Cu, Pb e Cd podem ser inseridos nessa matriz por contaminação ambiental, emprego de lodos e outros materiais contaminados como fonte nutrientes, ou ainda, durante o processamento e refino do óleo [140, 141]. Uma amostra de óleo de boa qualidade deverá apresentar teor de Cu que pode variar entre 20 e $200 \mu\text{g kg}^{-1}$ [142]. Metais como Pb e Cd são contaminantes e sua presença na composição de óleo de soja é indesejável.

O cobre é um microelemento essencial à função vital de vários organismos vivos, dessa forma, a presença deste metal em teores adequados no óleo de soja, pode representar alguns aspectos positivos, porém, elementos como Pb e Cd, não apresentam qualquer função biológica no organismo de seres vivos, e portanto, sua presença nessas matrizes pode promover apenas efeitos deletérios.

4.7 Análise de fertilizantes minerais

4.7.1 Extração simultânea de metais em amostras de fertilizantes minerais

Para determinar as melhores condições para a extração acelerada de Cd, Cr, Cu, Mn, Pb e Zn em amostra de fertilizantes minerais, assistida por ultrassom, empregou-se amostra 38b (2013), proveniente do programa interlaboratorial da ANDA. A Tabela 18 apresenta os valores de referência destes metais, mensurados pelo programa interlaboratorial da ANDA ($n = 12$), utilizando o método oficial, os quais foram considerados como 100%, para os cálculos de recuperação dos ensaios analíticos realizados no método proposto de extração simultânea.

Tabela 18. Valores de referência na amostra de fertilizante 38b/2013 ANDA ($n=12$).

Cu	Zn	Mn	Pb	Cd	Cr
----- % (m m ⁻¹) -----			----- mg kg ⁻¹ -----		
4,64 ± 0,15	7,60 ± 0,22	9,44 ± 0,27	3156 ± 150	9,76 ± 1,11	58,50 ± 5,07

4.7.1.1 Extração assistida por ultrassom

Para os testes de extração simultânea dos metais Cu, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr na amostra referência 38B, foram avaliados os efeitos de aquecimento e sonicação combinados entre si. Avaliaram-se as temperaturas de 25, 50 e 85 °C, combinadas aos tempos de sonicação de 5, 10 e 30 minutos, empregando duas soluções extratoras ácidas distintas em cada tratamento, HCl e HNO₃, ambas 50 % (v v⁻¹). A massa de amostra empregada nos ensaios foi fixada em 150 mg. Estas condições de pré-tratamento da amostra foram definidas com base em trabalhos realizados anteriormente para amostras de fertilizantes [15, 20].

Soluções de ácido nítrico e de ácido clorídrico a 50 % (v v⁻¹) foram avaliadas, separadamente, como agentes de extração de metais, fixando, enquanto que a massa de amostra empregada (150 mg) e o volume das soluções ácidas extratoras (4 mL) foram mantidos constantes. Estes valores de massa e volume foram empregados em função de estudo prévio da extração de alguns metais de fertilizantes usando energia ultrasônica [15]. A influência do aquecimento na extração dos metais combinado à energia ultrassônica também foi avaliada com o auxílio de um banho termostatizado, avaliando três diferentes temperaturas, 25, 50 e 85 °C, em cada teste. Os tempos de sonicação avaliados foram 5, 10 e 30 minutos. Os extratos foram analisados por MIP OES e os resultados foram comparados com os obtidos pelo método oficial. Os respectivos valores de LD para Cu, Zn, Mn, Cd, Pb e Cr foram 25,9; 10,4; 12,6; 26,1; 28,9 e 5,7 µg L⁻¹, e os valores de LQ foram 86,2; 34,6; 41,9; 86,9; 96,2 e 19,0 µg L⁻¹, respectivamente, para o método proposto.

A eficiência de extração foi calculada com base nos resultados apresentados na Tabela 18, obtida pelo método oficial. As Tabelas 19 e 20 apresentam os valores de recuperação de cada metal empregando as diferentes condições de pré tratamento das amostras de fertilizante

mineral. Na seção Anexo, estão os gráficos dos dados das tabelas a seguir, apresentadas nas Figuras 33 e 34.

Tabela 19. Eficiência de recuperação de metais em fertilizante inorgânico (massa 150 mg) com 4 mL de HNO₃ 50% (v v⁻¹) (n=3).

Pré tratamento T (°C)	Cu	Zn	Mn	Pb	Cd	Cr
Eficiência de Recuperação (%)						
25	5 min	93,8 ± 1,9	95,5 ± 3,5	29,3 ± 0,6	111,5 ± 5,5	31,0 ± 2,4
	10 min	91,5 ± 4,6	97,1 ± 2,5	27,4 ± 2,3	117,5 ± 5,5	31,2 ± 3,9
	30 min	100,7 ± 4,4	98,1 ± 2,2	29,6 ± 0,9	110,8 ± 3,8	29,1 ± 1,0
50	5 min	82,3 ± 2,8	91,6 ± 3,6	23,6 ± 1,1	99,6 ± 7,1	29,1 ± 3,2
	10 min	96,4 ± 7,5	98,4 ± 2,6	28,2 ± 2,3	108,8 ± 2,0	30,7 ± 1,2
	30 min	98,2 ± 3,0	97,2 ± 1,3	28,4 ± 2,2	125,3 ± 18,0	28,2 ± 2,6
85	5 min	98,2 ± 7,5	95,4 ± 3,8	28,1 ± 2,2	107,1 ± 4,9	28,5 ± 1,4
	10 min	103,3 ± 4,6	97,6 ± 5,0	29,2 ± 1,1	108,2 ± 4,3	29,8 ± 3,2
	30 min	100,7 ± 4,8	103,3 ± 4,0	28,4 ± 1,3	104,5 ± 2,7	29,4 ± 3,5

Tabela 20. Eficiência de Recuperação de metais em fertilizante inorgânico (massa 150 mg) com 4 mL de HCl 50% (v v⁻¹) (n=3).

Pré tratamento T (°C)	Cu	Zn	Mn	Pb	Cd	Cr
Eficiência de Recuperação (%)						
25	5 min	90,0 ± 4,4	96,7 ± 1,4	29,6 ± 4,4	103,7 ± 2,4	33,0 ± 6,3
	10 min	108,6 ± 10,3	100,6 ± 4,7	40,8 ± 6,2	113,6 ± 5,5	33,0 ± 2,1
	30 min	104,3 ± 8,5	98,7 ± 8,4	43,8 ± 5,5	110,0 ± 5,2	32,8 ± 2,7
50	5 min	91,1 ± 9,1	98,3 ± 3,2	37,1 ± 3,5	105,6 ± 4,7	31,2 ± 1,6
	10 min	108,3 ± 5,6	102,0 ± 2,2	53,9 ± 5,6	118,6 ± 2,9	38,5 ± 3,5
	30 min	113,5 ± 11,8	102,8 ± 4,9	81,4 ± 4,2	118,2 ± 0,7	39,8 ± 1,4
85	5 min	95,9 ± 2,0	99,7 ± 2,8	76,7 ± 2,9	116,5 ± 2,1	39,8 ± 2,1
	10 min	104,5 ± 2,1	99,7 ± 4,0	99,8 ± 6,1	114,4 ± 2,3	48,5 ± 3,1
	30 min	103,4 ± 3,9	100,1 ± 1,0	116,2 ± 1,2	119,3 ± 5,0	48,5 ± 1,8

Foram obtidos valores de recuperação superiores a 80% para a extração do Cu, Pb e Zn em todas as condições avaliadas, seja para tempo de sonicação, temperatura ou solução extratora ácida. Tanto a solução de HCl, quanto de HNO₃, a uma concentração de 50% (v v⁻¹) foram eficientes para a extração de Cu, Pb e Zn. No entanto, para a extração de Cd, Cr e Mn, a solução de HCl foi significativamente melhor, se comparada com a solução de HNO₃.

Com exceção do Cd, foram obtidas eficiências de recuperação próximas de 100%, para Cr e Mn, quando empregado solução de HCl com 10 minutos de sonicação a uma temperatura de 85 °C. O aumento no tempo de sonicação para 30 minutos, não conferiu melhores valores de recuperação para os teores de Cd, assim, o uso de 10 minutos foi escolhida como a melhor condição, considerando a extração dos demais metais.

Ainda empregando solução de HCl como extratora, foi possível verificar uma condição favorável de recuperação dos metais (>80%), com exceção do Cd, quando empregado 30 minutos de sonicação a uma temperatura de 50°C, podendo ser considerada como uma possível condição para a extração de metais em fertilizantes minerais .

Em nenhum tratamento as recuperações para Cd foram maiores que 50%, porém, trabalhos realizados anteriormente com outras amostras de fertilizantes minerais apresentaram resultados de recuperação mais favorável, ao redor de 90%, no entanto a massa de amostra empregada foi de 70 mg [20]. Deve ser considerada a composição matricial da amostra, uma vez que este material apresenta grande heterogeneidade, afetando consequentemente a interação entre analitos e solução extratora, pois os fertilizantes minerais são constituídos por uma mistura de diferentes matérias primas, com diferentes matrizes minerais que por sua apresentam reatividades distintas com os extratores empregados.

A alta eficiência da solução de HCl como extrator ácido é atribuída ao forte poder de complexação do HCl, em comparação a capacidade oxidante do HNO₃, significativamente diminuído devido à diluição em solução para 50% (v v⁻¹).

O efeito de aquecimento foi avaliado, individualmente, na extração de metais na amostra de fertilizante, empregando 150 mg da amostra, tratada com 4 mL de HCl 50% (v v⁻¹) a uma temperatura de 85 °C durante 30 minutos, sem sonicação. A Tabela 21 apresenta os resultados obtidos para este teste.

Tabela 21. Eficiência de recuperação (em %) de metais empregando apenas aquecimento a 85 °C (n=3).

Cu	Zn	Mn	Pb	Cd	Cr
69 ± 6	52 ± 9	26 ± 2	64 ± 5	8 ± 1	26 ± 8

O emprego de aquecimento sem combinação da sonicação não resultou em valores de recuperação satisfatórios para a extração de metais na amostra de fertilizante. O maior valor de recuperação foi para Cu, no entanto, um valor significativamente mais baixo quando comparados com os resultados obtidos utilizando energia ultrassônica. Este resultado indica que a eficiência satisfatória para extração de metais em fertilizantes exige não só apenas o

emprego do aquecimento, mas principalmente a energia ultrassônica, assim sendo, a combinação entre as duas fontes de energia (temperatura e sonicação) promove um sinergismo favorável na extração de metais em amostras de fertilizantes minerais.

A aplicação do teste t de Student, ao nível de 95% de confiança para comparação das médias dos resultados analíticos obtidos no método oficial e proposto, utilizando solução extratora de HCl 50 % ($v\ v^{-1}$), com 10 minutos de sonicação e aquecimento a 85 °C, revelou que os resultados para Cu, Zn, Mn e Cr não foram estatisticamente diferentes, porém, para Pb, o teste apresentou uma diferença significativa entre a média do método proposto e a média do resultado empregando no método oficial. O teste t de Student não foi aplicado para o Cd devido ao baixo valor de recuperação deste metal.

Em resumo, a extração assistida por ultrassom utilizando solução de HCl 50% ($v\ v^{-1}$) durante 10 minutos de sonicação com aquecimento a 85 °C foi eficaz para extrair Cu, Zn, Mn, Cr e Pb dos fertilizantes inorgânicos. Os valores de RSD para as análises foram abaixo de 6% e valores de recuperação ficaram entre 99 e 114%, exceto para Cd.

4.7.2 Determinação de mercúrio em amostras de fertilizantes minerais

4.7.2.1 Método oficial

Os resultados analíticos de mercúrio presente nas amostras de estudo, apresentados na Tabela 22, foram encontrados empregando o método oficial de análise proposto pelo programa interlaboratorial ($n=5$) da ANDA, juntamente com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A eficiência de extração de mercúrio foi calculada com base nos resultados apresentados na Tabela 22 obtidos pelo método oficial. Os resultados das três primeiras amostras da tabela foram fornecidos pelo programa interlaboratorial da ANDA, enquanto que os resultados das outras duas amostras foram obtidos neste trabalho seguindo o método recomendado pela ANDA, com determinação instrumental empregando CV AAS.

Tabela 22. Valores referência de Hg nas amostras de fertilizantes empregando o método oficial proposto pela ANDA ($n=5$).

Amostra	Hg (mg kg^{-1})
MRR Nº 01/2010	$0,91 \pm 0,05$
05A/13	$2,02 \pm 0,03$
05B/13	$1,74 \pm 0,28$
*NPK (10.10.10)	$0,23 \pm 0,01$
*NPK (5.25.20)	$0,34 \pm 0,01$

* $n = 5$

4.7.2.2 Efeito das variáveis no pré-tratamento das amostras de fertilizantes

Como citado anteriormente, a amostra MRR Nº 01/2010, foi empregada para definir as melhores condições analíticas, empregando um planejamento univariado.

4.7.2.3 Solução extratora

A Tabela 23 apresenta os resultados de eficiência de recuperação de mercúrio, avaliando a composição e diferentes concentrações para cada ácido proposto neste estudo. Para realizar esse teste, foi fixada uma massa de amostra de 150 mg e um tempo de sonicação de 5 minutos para determinar o teor de Hg por CV AAS. O tempo de sonicação e a massa de amostra foram definidos baseados em outros trabalhos realizados anteriormente, para diferentes metais (Cu, Pb, Cd e Cr) porém com matrizes semelhantes [15, 20].

Tabela 23. Eficiência percentual de recuperação Hg com massa fixada em 150 mg e tempo de sonicação em 5 minutos (n=3).

Extrator	Composição/Concentração	Eficiência de Recuperação (%)
HNO ₃	40 % (v/v)	30 ± 2
HCl	50 % (v/v)	99 ± 1
HNO ₃ : HCl	2:1 - (40% v/v):(50% v/v)	94 ± 3
HNO ₃ : HCl	1:1 - (40% v/v):(50% v/v)	87 ± 2
HNO ₃ : HCl	1:2 - (40% v/v):(50% v/v)	74 ± 1
HNO ₃ : HClO ₄	2:1 - (40% v/v):(50% v/v)	29 ± 1

Entre as soluções ácidas empregadas, verificou-se que o ácido clorídrico 50 % (v v¹) apresentou melhor eficiência, quando comparado com os demais ácidos e combinações de ácidos. Dessa forma, para melhor otimização do procedimento, foram avaliadas concentrações menores de HCl. Neste teste a massa e o tempo de sonicação, foram respectivamente, 150mg e 5 minutos, novamente empregando a determinação dos teores de Hg por CV AAS. Os resultados obtidos considerando a variação da concentração de ácido clorídrico são apresentados na Tabela 24.

Tabela 24. Eficiência percentual de recuperação Hg para diferentes concentrações de HCl (n=3).

Ácido Clorídrico - % (v v ⁻¹)	% Recuperação – Hg
10	43 ± 2
30	100 ± 1
50	99 ± 1

É possível verificar que solução de ácido clorídrico 30 % (v v⁻¹), aproximadamente 3,6 mol L⁻¹, apresentou eficiência de recuperação significativa e comparável à concentração de 50 % (v v⁻¹), descartando-se assim a hipótese de se trabalhar com uma solução de maior concentração.

4.7.2.4 Massa de amostra

Empregando a solução de ácido clorídrico 30 % (v v⁻¹), foram realizados testes para verificar o comportamento da massa de amostra no processo de pré-tratamento, mantendo o tempo de sonicação em 5 minutos e realizando a determinação instrumental por CV AAS. A Tabela 25 apresenta a eficiência de recuperação de mercúrio em função da variação de massa tratada.

Tabela 25. Eficiência percentual de recuperação Hg para diferentes massas de amostra (n=3)

Massa de Amostra (mg)	% Recuperação – Hg
100	101 ± 7
150	100 ± 1
200	91 ± 1
250	55 ± 2
300	43 ± 2

Como o aumento da massa, ocorre um decréscimo na eficiência de recuperação de mercúrio. Apesar da massa de 100 mg ter apresentado efeito satisfatório na recuperação de mercúrio, ocorreu um aumento no desvio das medidas. Devido à complexidade mineral da matriz, o processo de pré-tratamento pode sofrer maiores variações analíticas quando empregado massa reduzida de amostra. Nesse caso, empregou-se a massa de 150 mg como valor mais favorável, pois o valor de desvio foi menor. O processo de pré-tratamento dessas amostras é baseado em uma solubilização do analito no meio extrator. As amostras não sofrem solubilização total, ou seja, ao final do processo de sonicação ainda persiste material particulado sedimentado ao fundo do tubo de ensaio. A perda de eficiência na recuperação de Hg para testes empregando maior massa de amostra está relacionada à dificuldade de reação

do ataque ácido a uma quantidade maior de amostra e dessa forma, desfavorecendo a solubilização do analito no extrato ácido.

4.7.2.5 Tempo de sonicação

O último teste realizado foi a avaliação de menores tempos de sonicação no pré-tratamento das amostras, empregando nessas condições uma massa de 150 mg da amostra e 4 mL de solução de HCl 30 % ($v\ v^{-1}$), determinando os teores de Hg por CV AAS. A Tabela 26 apresenta os resultados da extração de Hg em função da variação do tempo de sonicação empregando 150 mg de fertilizante.

Tabela 26. Eficiência percentual de recuperação Hg para diferentes tempos de sonicação (n=3).

Tempo de Sonicação (min)	% Recuperação – Hg
1	81 ± 2
3	95 ± 1
5	100 ± 1

Tempos inferiores a 5 minutos apresentaram menor eficiência de recuperação. Dessa forma, para o tratamento proposto por esse trabalho, empregou-se 5 minutos de sonicação em banho de ultrassom sem aquecimento.

4.7.2.6 Determinação de Hg em amostras de fertilizantes minerais

Realizou-se o estudo de interferentes para as determinações de Hg por CV AAS e MIP OES empregando a razão **interferente:Hg** igual a 1:1, 10:1 e 100:1, mantendo a concentração de Hg fixa em $25 \mu\text{g L}^{-1}$. Foram selecionados como interferentes os íons Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , K^+ , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , As^{3+} e Se^{4+} , comumente encontrado em matrizes de fertilizantes inorgânicos. O limite de tolerância de espécies interferentes não pode ter influência maior que ± 10% da recuperação do analito [143, 144]. Os valores de LD e LQ empregando a técnica de CV AAS foram, respectivamente, 0,6 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que empregando MIP OES, foram 0,3 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A Tabela 27 apresenta os resultados de recuperação de mercúrio em função dos interferentes em diferentes concentrações.

Tabela 27. Efeito de alguns interferentes na recuperação de 25 µg L⁻¹ de Hg (n=3).

Espécies Interferentes	Interferente:Hg	CV AAS	MIP OES
		Eficiência de Recuperação (%)	
Cu	1:1	102 ± 1	102 ± 2
	10:1	102 ± 2	102 ± 1
	100:1	96 ± 2	99 ± 1
Zn	1:1	101 ± 3	99 ± 5
	10:1	103 ± 1	103 ± 1
	100:1	99 ± 1	102 ± 2
Fe	1:1	102 ± 2	102 ± 1
	10:1	101 ± 4	102 ± 1
	100:1	101 ± 2	102 ± 1
Mn	1:1	102 ± 1	99 ± 2
	10:1	102 ± 2	100 ± 4
	100:1	101 ± 2	100 ± 3
K	1:1	102 ± 2	102 ± 1
	10:1	99 ± 3	101 ± 1
	100:1	101 ± 2	103 ± 2
Pb	1:1	103 ± 4	102 ± 1
	10:1	103 ± 1	102 ± 1
	100:1	100 ± 2	102 ± 1
Cd	1:1	100 ± 2	102 ± 1
	10:1	103 ± 1	99 ± 1
	100:1	100 ± 2	105 ± 2
Cr	1:1	102 ± 1	102 ± 1
	10:1	102 ± 1	102 ± 2
	100:1	99 ± 2	102 ± 1
As	1:1	101 ± 1	101 ± 1
	10:1	102 ± 5	102 ± 2
	100:1	107 ± 1	101 ± 2
Se	1:1	101 ± 1	101 ± 1
	10:1	102 ± 2	101 ± 1
	100:1	105 ± 1	101 ± 2

Nenhuma interferência significativa destas espécies na determinação e recuperação de Hg por CV AAS (valores de recuperação entre 96% e 107%) ou MIP OES (valores de recuperação entre 99 % e 105 %) foi observada, portanto, o método proposto não apresenta interferentes empregando as duas técnicas de detecção.

Empregando as melhores condições obtidas nos testes realizados para cada variável, foi realizada a aplicação do método de pré tratamento de amostras em outras 4 amostras. Os extratos foram analisados por CV AAS e MIP OES. Os resultados foram comparados com os obtidos pelo método oficial, baseado no tratamento das amostras em chapa aquecedora. A Tabela 28 apresenta os resultados analíticos com seus respectivos desvios padrão e os valores percentuais de recuperação, considerando com 100% os valores de concentração obtidos pelo método oficial e de acordo com os valores de referências das amostras da ANDA.

Tabela 28. Resultado analítico de Hg em diferentes amostras de fertilizantes (n=5)

Amostra	CV AAS		MIP OES	
	Hg (mg kg ⁻¹)	% Rec Hg	Hg (mg kg ⁻¹)	% Rec Hg
MRR N° 01/2010	0,90 ± 0,03	99 ± 3	0,90 ± 0,02	99 ± 3
05A/13	1,94 ± 0,05	96 ± 2	1,88 ± 0,03	93 ± 2
05B/13	1,61 ± 0,03	93 ± 2	1,60 ± 0,03	92 ± 2
NPK (10.10.10)	0,22 ± 0,01	95 ± 5	0,22 ± 0,02	96 ± 9
NPK (5.25.20)	0,33 ± 0,02	95 ± 6	0,32 ± 0,01	94 ± 3

Os valores dos desvios percentuais de recuperação empregando as técnicas CV AAS e MIP OES foram menores que 10% e em todos os testes os valores de recuperação de Hg foram superior a 92 %. Este resultado indica que a extração assistida por ultrassom, empregando solução de HCl 30% (v.v⁻¹) e 5 minutos de sonicação foi efetivo para a extração de Hg nas amostras de fertilizantes inorgânicos.

A aplicação do teste t de Student ao nível de 95% para comparação entre as médias dos resultados do método oficial e o método proposto revelou que a amostra 05A/13, para ambas as técnicas de detecção (CV AAS e MIP OES), apresentou resultados estatisticamente diferentes. A amostra NPK (5.25.20) também apresentou diferença na comparação de média com o método oficial, quando empregado detecção por MIP OES.

No entanto, os valores de recuperação para estas amostras podem ser considerados aceitáveis (>90%), pois a extração assistida por ultrassom, empregando 5 minutos de sonicação em 150 mg de amostra com 4 mL de HCl 30 % (v v⁻¹), é um procedimento alternativo simples e eficaz quando comparado ao método oficial de preparação de amostras para a determinação de Hg em fertilizantes inorgânicos. O método oficial consiste em um processo moroso e envolve a utilização de mais reagentes e soluções mais concentradas. Não podem ser descartados ainda os problemas que podem surgir pelo aquecimento do extrato durante o processo de solubilização da amostra, levando a possíveis perdas de Hg por volatilização.

Foi avaliada ainda a estabilidade dos extratos ácidos sob as condições otimizadas no prazo de 10 dias corridos utilizando amostra referência MRR n°01/2010. Dessa forma, foram preparados 10 extratos ácidos da amostra usando o método proposto e realizaram-se leituras do 1º ao 5º dia, consecutivamente, e posteriormente mais uma leitura após 10 dias. Os resultados são apresentados na Tabela 29.

Tabela 29. Resultado analítico de Hg e eficiência de recuperação em extratos analisados em diferentes dias.

Dia	Hg (mg kg^{-1})	% Recuperação
1	0,86	94
2	0,87	96
3	0,94	103
4	0,85	94
5	0,92	101
10	0,89	97

Os resultados permaneceram constantes até o 5º dia, posteriormente foi realizada apenas mais uma medida ao final de 10 dias. O desvio padrão percentual para estas seis medidas foi de 3,8 %. Com o teste t de Student bilateral para comparação médias, ao nível de confiança de 95 %, verificou-se que não houve diferenças significativas entre a média dos resultados encontrados pelo método proposto, com o valor de certificado da amostra de referência ($t_{\text{calculado}} = 0,68 < t_{\text{tabelado}} = 2,26$).

CAPÍTULO 5

5. Considerações Finais

➤ Estudo de metais na soja.

Com a execução deste trabalho é conclusivo que a soja possui capacidade de absorver Pb e Cd. Foram quantificados teores destes metais tóxicos no óleo e no farelo desengordurado. A presença destes metais no óleo e no farelo pode representar um risco de contaminação aos seres vivos, considerando a ampla aplicação destes dois subprodutos derivados da soja. Também foram quantificados teores destes metais nas amostras de tecido foliar, no entanto, dependo da aplicação desta biomassa, pode-se afirmar que a presença de Pb e Cd no tecido foliar oferece pouco, ou, quase nenhum risco de contaminação de seres vivos, avaliando obviamente a destinação desta biomassa.

Nas amostras vegetais, os maiores teores de Pb foram detectados no tecido foliar, enquanto que concentrações menores foram detectadas no farelo de soja e óleo. Os teores de Cd também foram maiores nas amostras de tecido foliar, porém, ao contrário do Pb, os valores de Cd foram maiores nas amostras de óleo, quando comparado com as amostras de farelo desengordurado.

Os teores de Cu foram superiores aos teores de Pb e Cd nas amostras de tecidos vegetais. Isso pode ser justificado pelo fato do Cu ser um micronutriente essencial e apresentar funções biológicas específicas. A maior concentração deste metal foi no farelo desengordurado, material que por sua vez, possui os maiores teores de metaloproteínas e metaloenzimas na planta. Como Pb e Cd não apresentam qualquer função metabólica que contribuam com o desenvolvimento dos frutos das plantas, os mesmos acabam por ter uma maior acumulação nas folhas.

A utilização de fertilizantes minerais contendo concentrações traços Pb e Cd podem promover a contaminação de solos e que por sua vez podem ser transportados para plantas de soja. Apesar de Cu não ser um elemento de grande toxicidade, os altos teores encontrados no óleo podem acelerar processos de degradação do mesmo.

Os teores de Pb, Cd e Cu nas amostras de solos foram maiores após o cultivo da soja. O vaso 1, ao qual foi aplicado apenas o fertilizante NPK+Micro, apresentou teores remanescentes de Cu, Pb e Cd, medidos após extração com a solução extratora de DTPA. Antes do cultivo, os teores de Pb e Cd não se encontravam em faixa detectável. Esse resultado mostra que fertilizantes minerais podem representar fonte de contaminação de solos. Não foi detectado Cd nas amostras de óleo, farelo desengordurado e tecido foliar cultivados no vaso 1. A forma química deste metal no solo, ou ainda, a concentração do mesmo pode ter sido um fator de inibição da absorção deste elemento pelas plantas de soja. Quanto ao Pb, com exceção do farelo desengordurado, foram quantificados os teores deste metal no tecido foliar e óleo.

➤ **Estudo de metais em fertilizantes.**

O efeito de cavitação promovido pelo banho de ultrassônico foi eficiente na extração de Hg presente em 5 diferentes tipos de amostras de fertilizantes minerais. Em condições otimizadas, nenhuma das amostras apresentou eficiência de recuperação menor que 91 %, comparando com os resultados obtidos pelo método oficial proposto pelo MAPA.

As duas técnicas de detecção (CV AAS e MIP OES) foram suficientemente viáveis para esta aplicação. A técnica de MIP OES oferece algumas características analíticas mais eficientes quando comparada com a técnica de CV AAS, por se tratar de uma técnica de determinação multielementar, existe a possibilidade de se analisar As e Se juntamente com Hg, caso seja utilizado NaBH₄ como agente redutor, apresentar ainda menor valor de limite de detecção instrumental e utiliza nitrogênio molecular (N₂) advindo do ar atmosférico como gás suporte do plasma. O ensaio para avaliação de interferentes foi favorável, pois em nenhum dos testes avaliados houve perda ou incremento na eficiência de recuperação do Hg presente na amostra de fertilizante mineral.

O banho ultrassônico é uma alternativa eficiente no tratamento de amostras para quantificação deste elemento, pois os ensaios são realizados a temperatura ambiente, além de ser um procedimento de simples aplicação.

Para a proposta de um método para extração simultânea de Cu, Zn, Mn, Pb, Cd e Cr presente em amostras de fertilizantes, verificou-se que a combinação de um aquecimento brando durante a sonicação das amostras aumentou significativamente a eficiência de extração destes metais. Com exceção do Cd, as eficiências de recuperação dos demais metais foram próximas de 100%, quando 150 mg de amostra foi sonicada por 10 minutos a uma temperatura de 85 °C, empregando 4mL de solução extratora de HCl 50% (v.v⁻¹). O emprego da solução extratora de HCl apresentou resultados significativamente melhores quando comparados com solução de HNO₃, ambas a 50% (v.v⁻¹).

Para avaliar a influência do aquecimento, individualmente, na extração destes metais nas amostras de fertilizantes, foi realizado um ensaio conduzido a 85 °C em banho termostatizado. Nenhum resultado apresentou eficiência de recuperação superior a 70 %. Esse teste comprovou a relevância do efeito de sonicação promovido pelo banho ultrassônico. Métodos de extrações multielementares aliada a técnicas de determinação simultânea de metais podem apresentar situações de amplo interesse analítico, como processos simplificados de preparo de amostras, menor tempo despendido na etapa de pré-tratamento, e ainda, procedimento menos dispendioso, quando comparado aos métodos clássicos de tratamento de amostras.

➤ **Perspectivas para trabalhos futuros.**

A investigação de outros aspectos adjacentes a esse trabalho pode complementar esta pesquisa e auxiliar no monitoramento ambiental de áreas de cultivo, empregando métodos analíticos para avaliar condições que podem provocar quaisquer efeitos deletérios ao meio ambiente e a saúde de seres vivos em geral. Dessa forma, são apontadas algumas situações que podem servir como propostas para trabalhos futuros.

- ✓ Realizar ensaios para avaliar teores biodisponíveis de Pb e Cd, entre outros metais tóxicos, em diferentes áreas com intensa atividade agrícola e nos respectivos insumos empregados em cada cultura.
- ✓ Avaliar os teores de outros metais, tais como Cr e Hg, em amostras de tecido vegetal, farelo e óleo de soja.
- ✓ Estudar o desenvolvimento de métodos de extração acelerada de metais presentes em amostras de tecido vegetal de soja empregando banho ultrassônico.
- ✓ Avaliar a combinação de diferentes soluções extratoras para otimizar a extração simultânea de metais presentes em amostras de fertilizantes minerais.
- ✓ Desenvolver métodos de preparo de amostra empregando energia ultrassônica para a extração e determinação simultânea de Hg, As e Se em amostras de fertilizantes minerais empregando MIP OES.
- ✓ Determinar metais em amostras de óleo de soja empregando MIP OES.

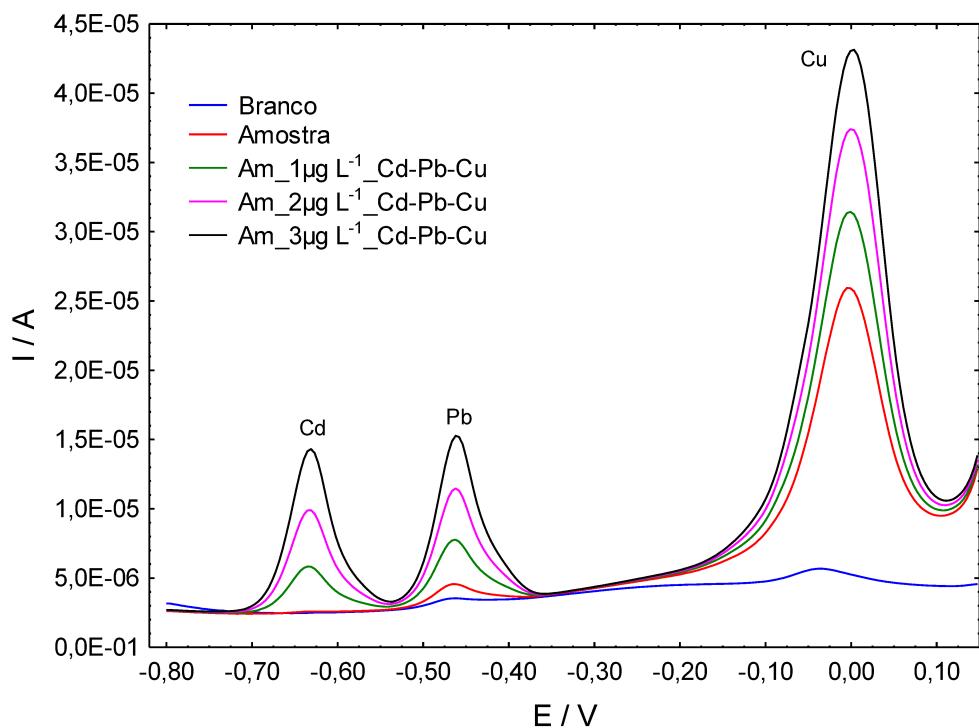
ANEXO

Quadro 2. Correlação da temperatura em função da alíquota a ser retirada na análise física.

Temperatura °C	Argila (5cm)		Argila+Silte (10cm)	
	Hora	Minuto	Minuto	Segundo
10	5	13	6	14
11	5	5	6	3
12	4	55	5	54
13	4	48	5	44
14	4	40	5	35
15	4	33	5	27
16	4	25	5	19
17	4	18	5	10
18	4	13	5	3
19	4	5	4	55
20	4	0	4	48
21	3	55	4	41
22	3	50	4	34
23	3	43	4	28
24	3	38	4	22
25	3	33	4	15
26	3	28	4	10
27	3	23	4	4
28	3	20	3	59
29	3	15	3	54

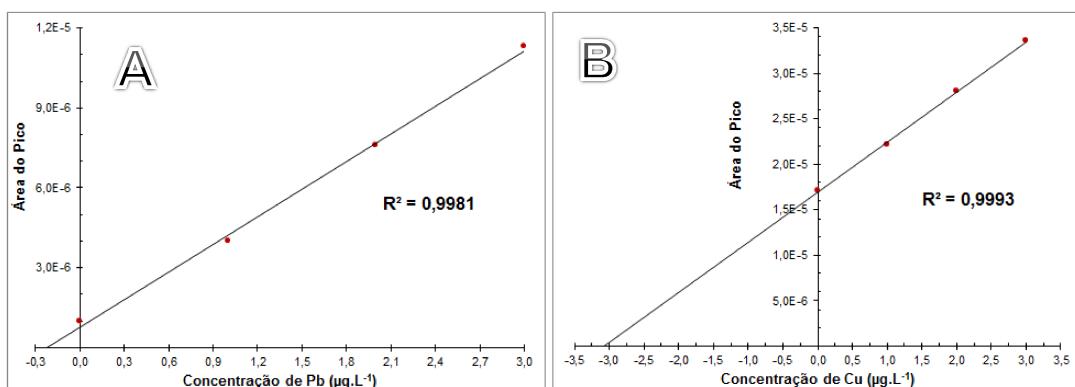
Fonte. CAMARGO et al. [122].

Figura 25. Voltamograma de onda quadrada para a análise da amostra de óleo do vaso 1 (Controle), após adições sucessivas de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Pb e Cu.



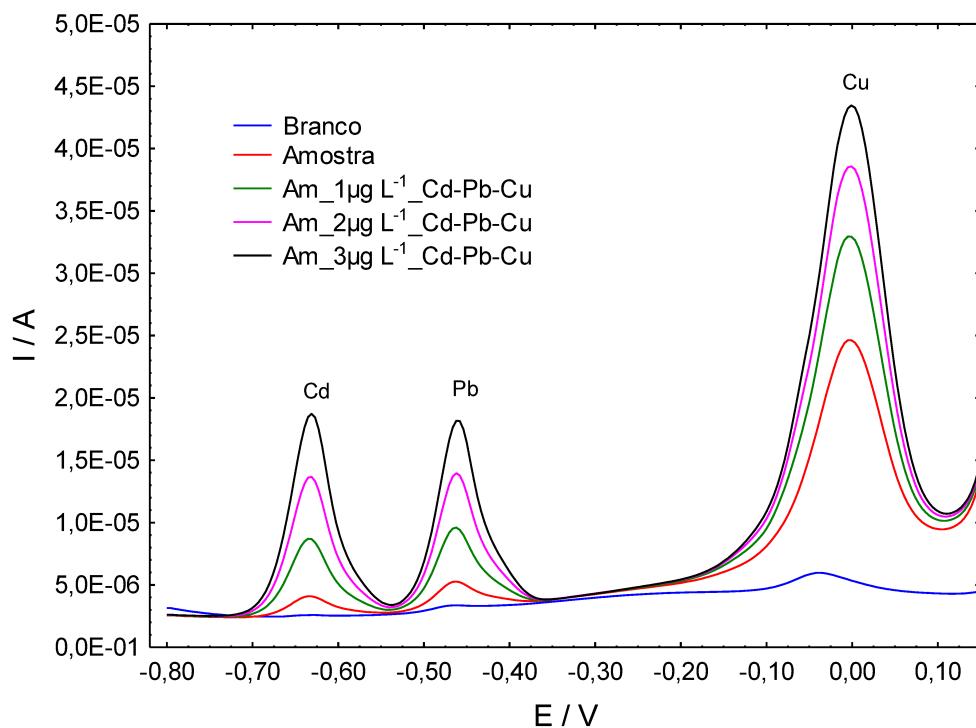
Fonte: Autor

Figura 26. Curva analítica para Pb (A) e Cu (B) da amostra de óleo do vaso 1 (Controle).



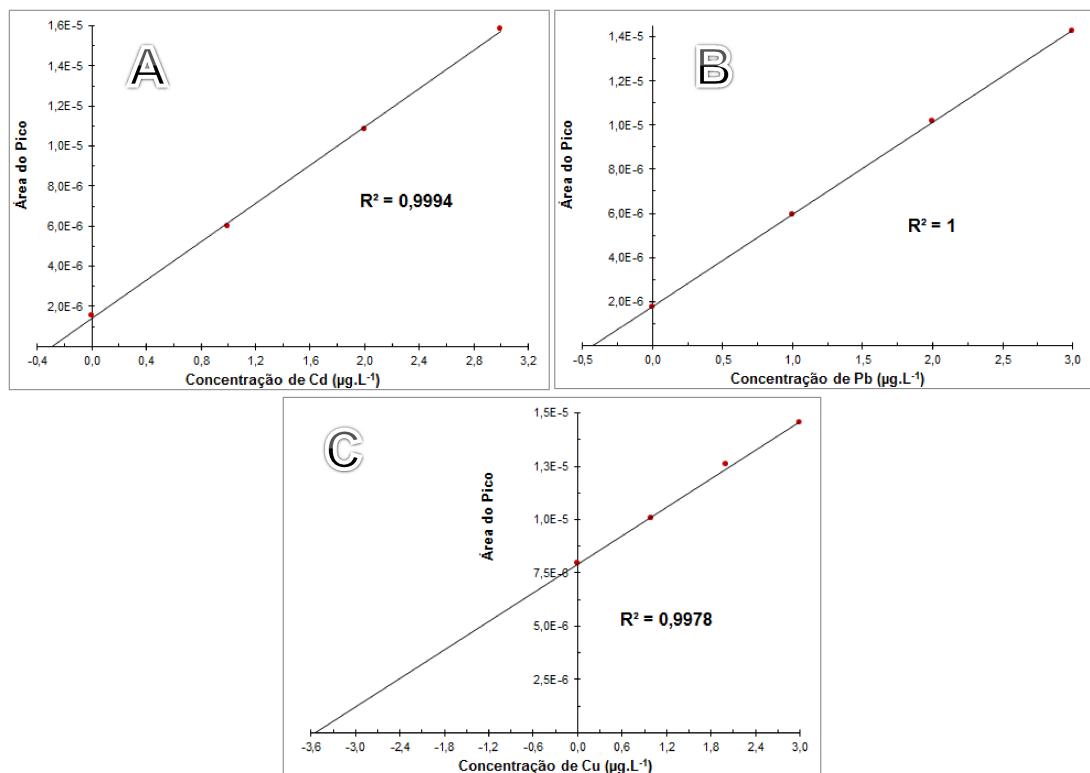
Fonte: Autor

Figura 27. Voltamograma de onda quadrada para a análise da amostra de óleo do vaso 2 após adições sucessivas de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Pb e Cu



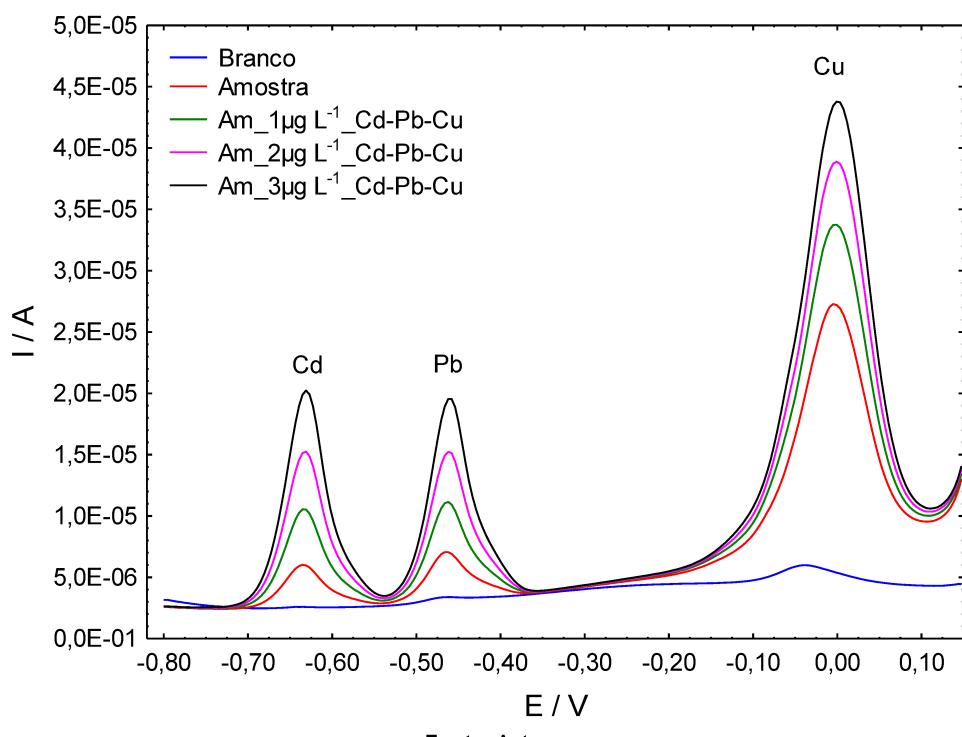
.Fonte: Autor

Figura 28. Curva analítica para Cd (A), Pb (B) e Cu (C) da amostra de óleo do vaso 2.



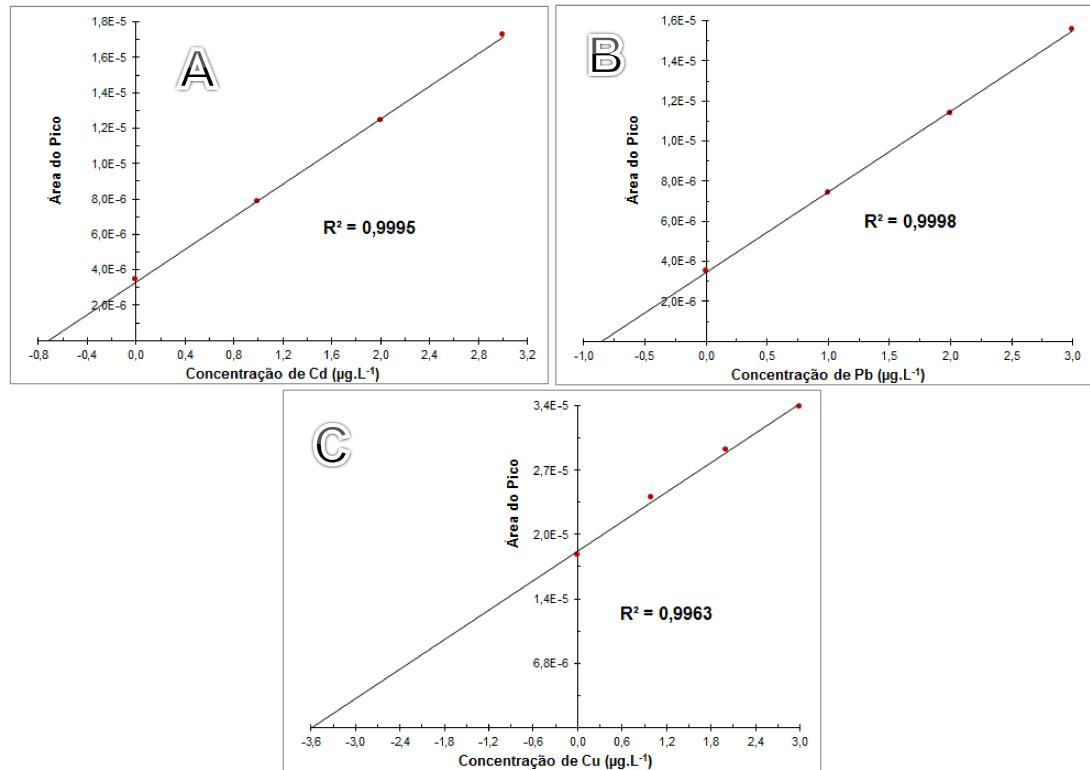
.Fonte: Autor

Figura 29. Voltamograma de onda quadrada para a análise da amostra de óleo vaso 3, após adições sucessivas de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Pb e Cu.



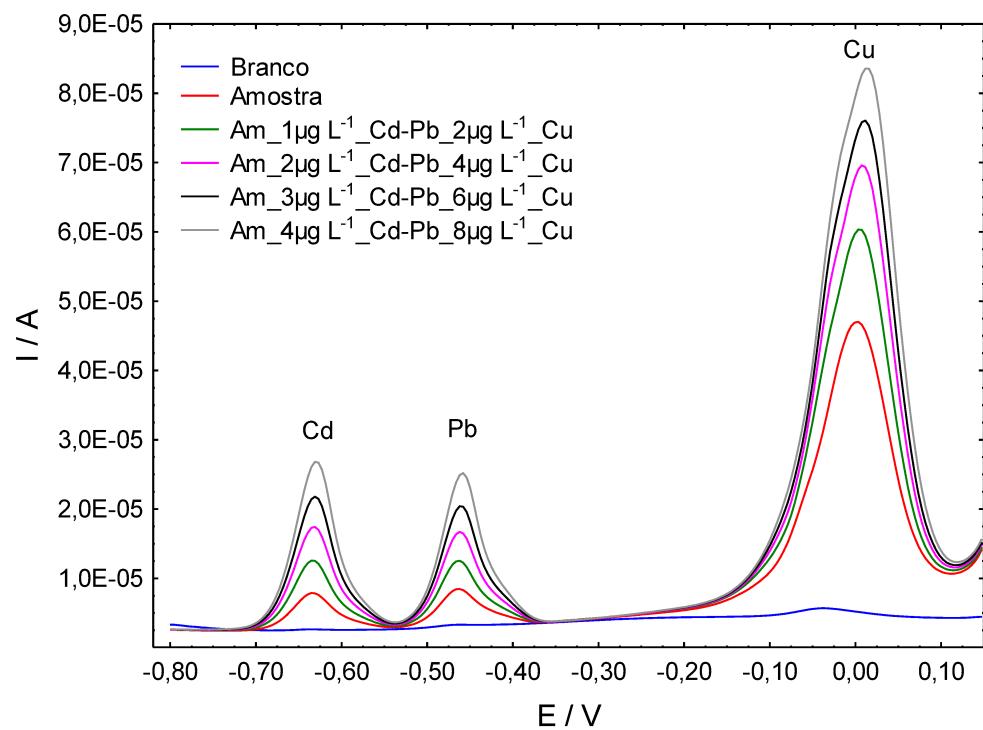
Fonte: Autor

Figura 30. Curva analítica para Cd (A), Pb (B) e Cu (C) da amostra de óleo do vaso 3.



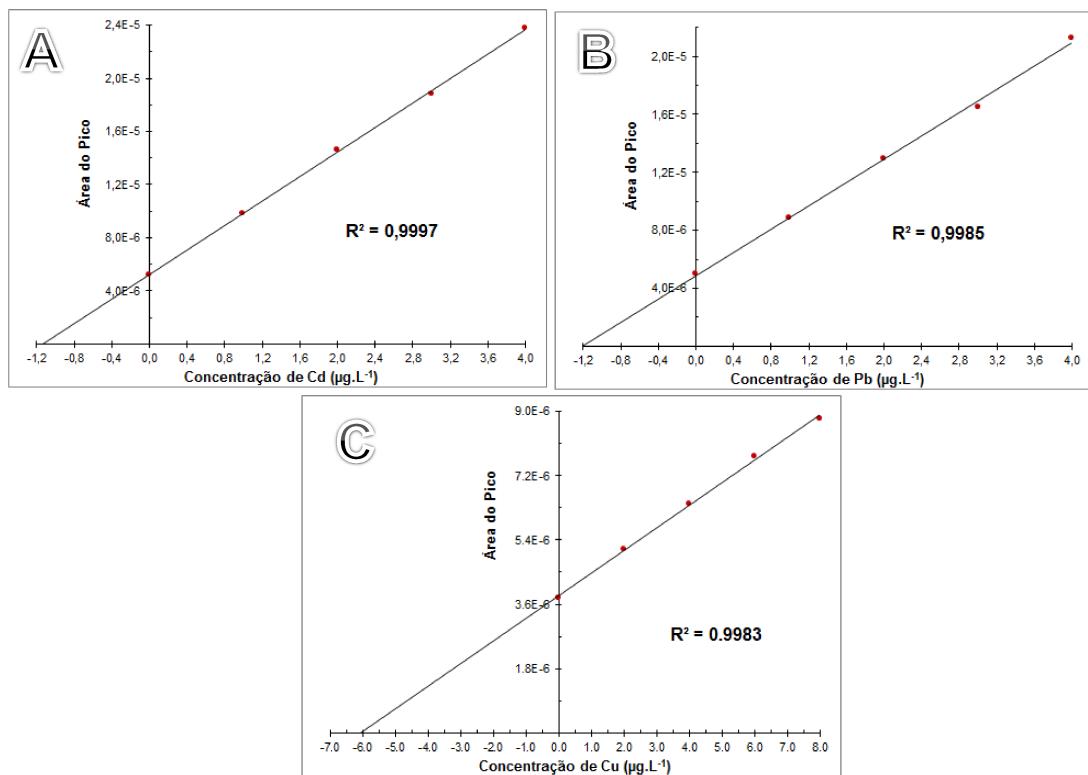
Fonte: Autor

Figura 31. Voltamograma de onda quadrada para a análise da amostra de óleo vaso 4, após adições sucessivas de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd e Pb, adições sucessivas de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ Cu.



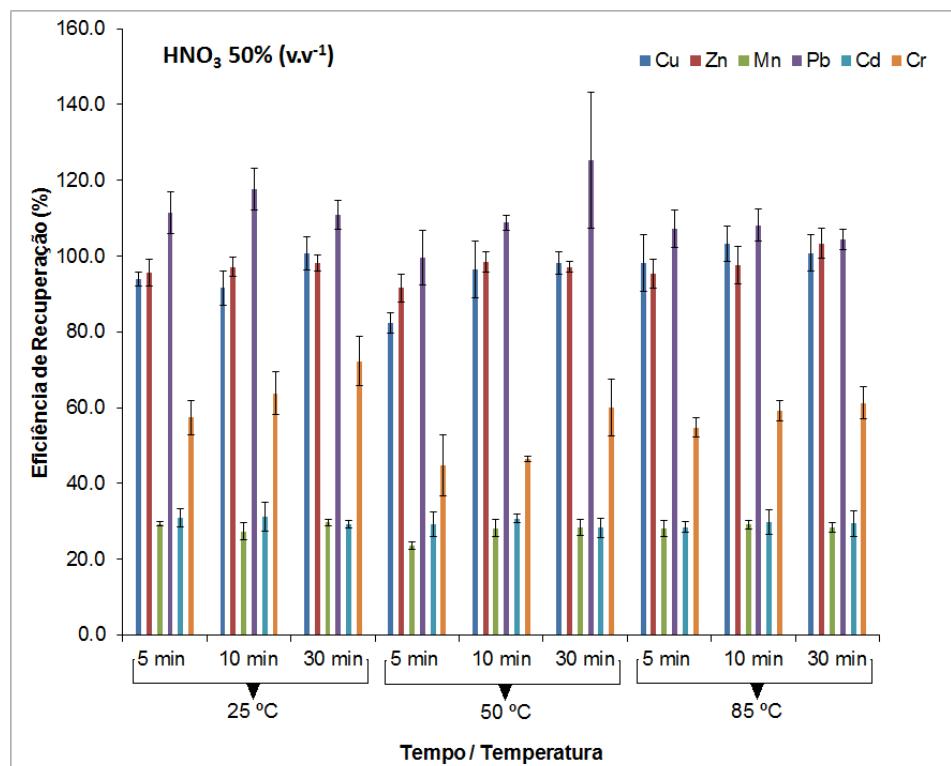
Fonte: Autor

Figura 32. Curva analítica para Cd (A), Pb (B) e Cu (C) da amostra de óleo do vaso 4.



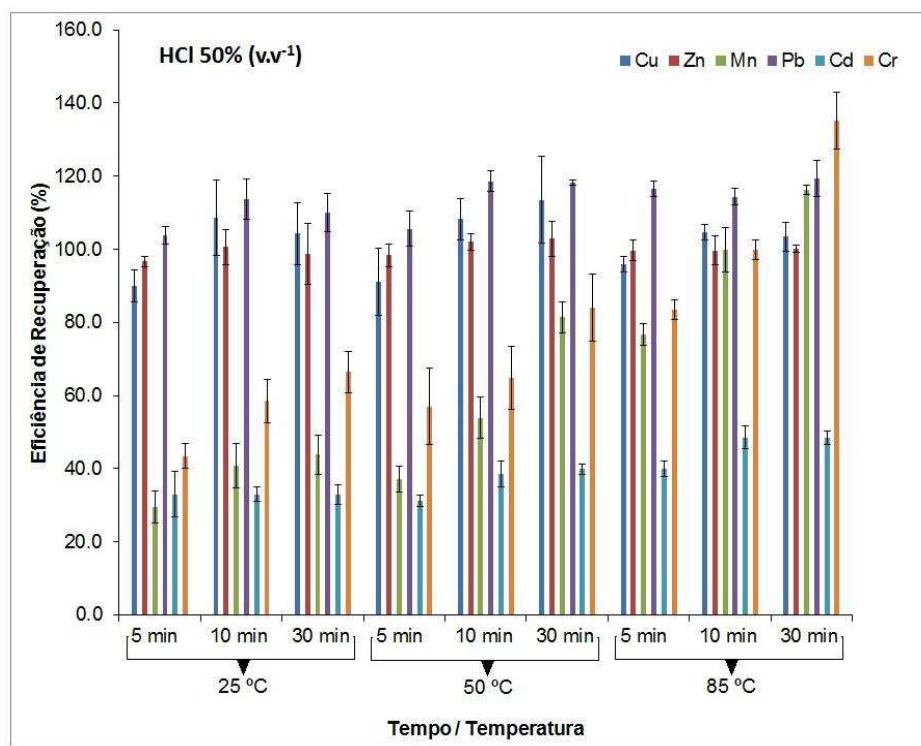
Fonte: Autor

Figura 33. Eficiência de recuperação de metais em fertilizante (massa 150 mg) com 4 mL de HNO_3 50% (v.v⁻¹) (n=3).



Fonte: Autor

Figura 34. Eficiência de recuperação de metais em fertilizante (massa 150 mg) com 4 mL de HCl 50% (v.v⁻¹) (n=3).



Fonte: Autor

REFERÊNCIAS

- [1] LIMA, G. J. M. M.; TAVERNARI, F. C.; LELIS, G. R.; MANZKE, N. E.; Implications of corn and soybean meal quality on swine production. Annual Meeting Brazilian Society of Animal Science. Campinas, 2013.
<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/90929/1/final7162.pdf>> Acessado em 12 de outubro de 2015.
- [2] <http://www.insumos.com.br/funcionais_e_nutraceuticos/materias/76.pdf> Acessado em 12 de outubro de 2015.
- [3] SCHAUB, J.; McARTHUR, W. C.; HACKLANDER, D.; GLAUBER, J.; LEATH, M.; DOTY, H.; The U.S. Soybean Industry. Commodity Economics Division. Economic Research Service. U.S. Department of Agriculture. Agricultural Economic Report v588. 1988.
- [4] <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>> Acessado em 12 de outubro de 2015.
- [5] <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>> Acessado em 12 de outubro de 2015.
- [6] <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>> Acessado em 12 de outubro de 2015.
- [7] Office of the Chief Economist. Agricultural Marketing Service Farm Service Agency. Economic Research Service & Foreign Agricultural Service. World Agricultural Supply and Demand Estimates. United States Department of Agriculture. 2015
<<http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>> Acessado em 12 outubro de 2015.
- [8] <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>> Acessado em 12 outubro de 2015.
- [9] FREITAS, M. C. M.; A cultura da soja no Brasil: o crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. Enciclopédia Biosfera, vol 7, n 12, 2011.
- [10] HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J.; Evolução e perspectiva de desempenho econômico associados com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro. Documentos - Embrapa Soja, ISSN 2176-2937, n. 319, 3º ed. Londrina, 2011.
- [11]<<http://www.informecorretora.com.br/noticias.php>> Acessado em 12 de Outubro de 2015.
- [12] JUSTINO, A. L.; LAGE, M. M. R.; PEREIRA, T. G. G.; RODRIGUES, M. F.; SILVA, M. A.; ORLANDI, D.; MAIA, G.; SALES, A.; QUEIROZ, B.; OLIVEIRA, J.; CABRAL, M.; EPIFANIO, Y.;

WALTER, M. E.; ABI-SABER, Â.; A engenharia de produzir sabonetes com óleo vegetal: uma produção sustentável. E-XACTA, vol 4, n. 2, 2011.

[13] PETROVI, Z. S.; Polyols and polyurethanes from vegetable oils. Seminário internacional - Soja: recurso renovável para usos industriais não alimentares. Rio de Janeiro, 2007.

<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/101144/1/ID-27223.pdf>> Acessado em 12 de outubro de 2015

[14] <http://www.cnpso.embrapa.br/noticia/ver_noticia.php?cod_noticia=379> Acessado em 12 de outubro de 2015.

[15] LIMA, A. F.; Desenvolvimento de métodos para o preparo de amostras de fertilizantes visando à determinação de cobre, cádmio e chumbo por espectrometria de absorção atômica com chama. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia. 78p. 2011.

[16] LIMA, P. C. R.; Fábrica de fertilizantes nitrogenados e produção de etanol no norte fluminense. Biblioteca Municipal da Câmara dos Deputados. Consultoria – abr. 2007.

[17] <<http://www.anda.org.br/index.php?mpg=03.00.00>> Acessado em 23 de outubro de 2015

[18] <<http://brasil.ipni.net/article/BRS-3132>> Acessado em 23 de outubro de 2015

[19] DUFFUS, J. H.; “Heavy Metals” – A meaningless term?. IUPAC Technical Report. Pure and Applied Chemistry. Vol 7. N. 5. 793-807. 2002.

[20] LIMA, A. F.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A. A.; Alternative analytical method for metal determination in inorganic fertilizers based on ultrasound-assisted extraction. Journal of the Brazilian Chemical Society. São Paulo, v. 22, n. 8, p. 1519-1524. 2011 .

[21] NÚÑEZ, J. E. V.; AMARAL, S. N. M. B.; PALMIERI, F.; MESQUITA, A. A.; Conseqüências de diferentes sistemas de preparo do solo sobre a contaminação do solo, sedimentos e água por metais pesados. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.23. 981-990. 1999.

[22] RAMALHO, J. F. G.; AMARAL, S. N. M. B.; VELLOSO, A. C. X.; Acúmulo de metais pesados em solos cultivados com cana de açúcar pelo uso contínuo de adubação fosfatada e água de irrigação. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 23. 971-979. 1999.

- [23] MAZUR, N.; Biossignificância de níquel, chumbo, zinco e cobre em solos que receberam composto de resíduo sólido urbano. Tese de Doutorado. Viçosa (MG): Universidade Federal de Viçosa. 135p. 1997.
- [24] OLIVEIRA, C.; Avaliação do potencial de contaminação de dois solos agrícolas com lodo de esgoto enriquecido com Cd, Pb, e Zn. Tese de Doutorado. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 191p. 1998.
- [25] AMARAL, S. N. M. B.; VELLOSO, A. C. X.; COSTA, L. M.; Lixiviação de Pb, Zn, Cd, e Ni em solo Podzólico Vermelho Amarelo Tratado com Resíduos Siderúrgicos. Revista Floresta e Ambiente, Seropédica,v.3, n.1. 65-75. 1999.
- [26] BERTONCINI, E. I.; MATTIAZZO, M. E.; Lixiviação de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.23, 737-744. 1999.
- [27] McBRIDE, M. B.; Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: are USEPA regulations protective? Journal of Environmental Quality, v.24, 5-18. 1995.
- [28] SANTOS, P. I.; GOUVEA, R. C.; DUTRA, I. R.; Human occupational radioactive contamination from the use of phosphated fertilizers. Science Total Environment 162, 19-22. 1995.
- [29] ADRIANO, D. C.; Trace Elements in Terrestrial Environments, Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals, 2nd ed., Springer–Verlag, Berlin, 2001.
- [30] LIU, L.; CHEN, H.; CAI, P.; LIANG, W.; HUANG, Q.; Immobilization and phytotoxicity of Cd in contaminated soil amended with chicken manure compost. Journal of Hazardous Materials, v.163, 563–567. 2009.
- [31] DYNIA, J. F.; BOEIRA, R. C.; SOUZA, M. D.; SILVA, A. S.; RAIJ, B. van; Relação entre fósforo disponível e cádmio extraível em amostras de solos cultivados com fruteiras no nordeste. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna. 2000.
- [32] MALAVOLTA, E.; Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificações e fatos. São Paulo, Produquímica, 1994.
- [33] SFREDO, G. J.; Soja no Brasil: Calagem, adubação e nutrição mineral. Documentos – Embrapa Soja, ISSN 1516-781X, n. 305, 1º ed. Londrina, 2008.

- [34] NAVA, I. A.; Produtividade da soja em função da aplicação de fertilizantes comerciais formulados com diferentes fontes de zinco e fitodisponibilidade dos metais pesados tóxicos cádmio, chumbo e cromo. Tese Mestrado. Marechal Cândido Rondon (PR). UNIOESTE, 56p. 2008.
- [35] SANTOS, O. S.; Micronutrientes na cultura da soja. Encarte Técnico - POTAFÓS. Informação Agronômicas, n. 85. 1999.
- [36] MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A.; Avaliação do estado nutricional das plantas princípios e aplicações. 2a ed. Piracicaba: POTAFOS, 319p. 1997
- [37] CHANEY, R.L.; OLIVER, D.P.; Sources, potential adverse effects and remediation of agriculture soil contaminants. In: NAIDU, R. (Ed.). Contaminants and the soil environment in the Australasia-Pacific region. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.323-359. 1996.
- [38] SILVA, M. L. S.; VITTI, G. C.; TREVIZAM, A. R.; Concentração de metais pesados em grãos de plantas cultivadas em solo com diferentes níveis de contaminação. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.42, n.4, p.527-535. 2007.
- [39] BAKER, A.J.M. Metal tolerance. New Phytologist, v.106, p.93-111, 1987.
- [40] CASTILHOS, D. D.; GUADAGNIN, C. A.; SILVA, M. D.; LEITZKE, V. W.; FERREIRA, L. H.; NUNES, M. C.; Acúmulo de cromo e seus efeitos na fixação biológica de nitrogênio e absorção de nutrientes em soja. Revista Brasileira de Agrociência, v.7 n. 2, p. 121-124. 2001.
- [41] LOSI, M.E.; AMRHEIN, C.; FRANKENBERGER, W.T.; Environmental biochemistry of chromium. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, New York, v.135, p.91-121. 1994.
- [42] JUNIOR, A. C. G.; LUCHESE, E. B.; LENZI, E.; Avaliação da fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e crômio, em soja cultivada em latossolo vermelho escuro tratado com fertilizantes comerciais. Química Nova, 23(2). p.173-177. 2000.
- [43] NAVA, I. A.; JUNIOR, A. C. G.; NACKE, H.; GUERINI, V. L., SCHWANTES, D.; Disponibilidade dos metais pesados tóxicos cádmio, chumbo e cromo no solo e tecido foliar da soja adubada com diferentes fontes de NPK+Zn. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 35, n. 5, p. 884-892. 2011.

- [44] BERTON, R.S.; Riscos de contaminação do agrossistema com metais pesados. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. (Ed.). Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p.259-268. 2000. 2000
- [45] ALLEN, L. B., SIITONEN, P. H., HAROLD, C., THOMPSON, J. Determination of copper, lead, and nickel in edible oils by plasma and furnace atomic spectroscopies. JAACS. v.75. p.477-481. 1998.
- [46] MOREIRA, R. S.; MINCATO, R. L.; SANTOS, B. R.; Heavy metals availability and soil fertility after land application of sewage sludge on dystroferric red latosol. Ciência e Agrotecnologia. v. 37, n. 6, p.512-520. 2013.
- [47] SIMONETE, M. A.; KIEHL, J. C.; Extração e fitodisponibilidade de metais em resposta à adição de lodo de esgoto no solo. Scientia Agricola, v.59, n.3, p.555-563. 2002.
- [48] FILHO, F. B. E.; Avaliação da ocorrência e distribuição química de metais pesados na compostagem do lixo domiciliar urbano. Tese de Mestrado. Viçosa (MG). Universidade Federal de Viçosa. 176p. 1993.
- [49] LESCHBER, R.; DAVIES, R.D.; LÍHERMITE, P.; Chemical methods for assessing bioavailability metals in sludge and soils. London: Elsevier. 96p. 1985.
- [50] QUEVAUVILLER, P.; Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis – II. Certified reference materials. Trends Analytical Chemistry. n.17, p632-642, 1998.
- [51] LOMBARDI, M. C. C.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A.; Extração de micronutrientes em solo com solução de DTPA em forno de microondas com radiação focalizada. Revista Brasileira de Ciências do Solo, v26. p.789-794. 2002.
- [52] SILVA, F.C.; Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, EMBRAPA Solos, EMBRAPA Informática Agropecuária, 370p. 1999.
- [53] PELOZATO, M.; HUGEN, C.; CAMPOS, M. L.; ALMEIDA, J. A.; SILVEIRA, C. B.; MIQUELLUTI, D. J.; SOUZA, M. C.; Comparação entre métodos de extração de cádmio, cobre e zinco de solos catarinenses derivados de basalto e granito-migmatito. Revista de Ciências Agroveterinárias. Lages, v.10, n.1, p.54-61, 2011.
- [54] RAURET, G.; Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. Talanta, Amsterdam, v. 46, n. 3, p.449-455. 1998.

- [55] RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C.; Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. IAC, Campinas. 285p. 1997.
- [56] EMBRAPA. Manual de métodos de análise de solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Rio de Janeiro (RJ). 2. ed. rev. atual. 212p. 1997.
- [57] ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; RAIJ, B. van; SANTOS, W.R.; Comparação de métodos de análises para avaliar a disponibilidade de metais pesados em solos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.19, p.463-468.1995.
- [58] LINDSAY, W. L.; NORWEL, W. A.; Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Science Society of America Journal, v.42, p.421-428. 1978.
- [59] DOMINGUES, T. C. G.; Teor de metais pesados em solo contaminado com resíduo de sucata metálica, em função de sua acidificação. Tese de Mestrado. Campinas (SP). Instituto Agronômico de Campina (IAC). 75p. 2009.
- [60] TAYLOR, R. W.; IBEABUCHI, I. O.; SISTANI, K. R.; SHUFORD, J. W.; Heavy metal concentration in forage and extractability from some acid mine spoils. Water, Air and Soil Pollution, v.68, p.363-372. 1993.
- [61] ROCA, J.; POMARES, F.; Prediction of available heavy metals by six chemical extractants a sewage sludge-amended soil. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v.22, p.2129-2136. 1991.
- [62] SILVA, C. A.; RANGEL, O. J. P.; DYNIA, J. F.; BETTIOL, W.; MANZATTO, C. V.; Disponibilidade de metais pesados para milho cultivado em Latossolo sucessivamente tratado com lodos de esgoto. Revista Brasileira de Ciências do Solo, Viçosa , v. 30, n. 2, p. 353-364. 2006.
- [63] KORCAK, R.F.; FANNING, D.S.; Extractability of cadmium, copper, nickel, and zinc by double acid versus DTPA and plant content at excessive soil levels. Journal Environment Quality, v.7, p506-512. 1978.
- [64] ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; BERTON, R.S. Análise química de solo para metais pesados. In: ALVAREZ, V. V. H.; SCHAEFER, C. E.G. R.; BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M. (eds). Tópicos em Ciência do Solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.2, p.644–692. 2002.
- [65] KRUG F. J.; Métodos de decomposição de amostras. V Workshop sobre preparo de amostras. São Paulo. 5º Edição Revisada e Ampliada. Outubro de 2004.

- [66] BOCK, R.; A handbook of sample decomposition methods in analytical chemistry. Blackie Group. p.97-100. 1979.
- [67] COSTA, A. C. S.; KRUG, F. J.; OLIVEIRA, E.; NÓBREGA, J. A.; MATIAS, T. B.; Métodos de dissolução em ácidos e de fusão. In. KRUG, F. J.; Métodos de preparo de amostras. Fundamentos sobre prepare de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. Edição Francisco José Krug. 1º Edição. Piracicaba (SP). p. 141-168. 2010
- [68] SANZOLONE R. F., CHAO T. T., CRENSHAW G. L.; Atomic-absorption spectrometric determination of cobalt, nickel, and copper in geological materials with matrix masking and chelation-extraction. *Analytica Chimica Acta*. v.105 p.247 – 253. 1979.
- [69] KANE J.S.; Determination of nanogram amounts of bismuth in rocks by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization. *Analytica Chimica Acta* v.106, 2 p.325-331. 1979.
- [70] DAHLQUIST R. L., KNOLL J. W.; Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: Analysis of biological materials and soils for major, trace, and ultra-trace elements. *Applied Spectroscopy Reviews* v.32 p.1-29. 1978.
- [71] KINGSTON, H. M., JASSIE, L. B. Microwave energy for acid decomposition at elevated temperatures and pressures using biological and botanical samples. *Analytical Chemistry*. v.58, p.2534-2541. 1986.
- [72] McHARD J. A., FOULK S. J., NIKDEL S., ULLMAN A. H., POLLARD B. D., WINEFORDNER J. D.; Comparison study of four atomic spectrometric methods for the determination of metallic constituents in orange juice. *Journal of Analytical Chemistry* v.51 p.1613-1616. 1979.
- [73] KRUG, F. J.; Métodos de preparo de amostras. Fundamentos sobre prepare de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. Edição Francisco José Krug. 1º Edição. Piracicaba (SP). 340p. 2010.
- [74] ABREU M. F., ABREU C. A., ANDRADE J. C.; Determinação de boro em água quente, usando aquecimento com microondas. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: Instituto Agronômico, p.231-239. 2001.
- [75] FILGUEIRAS A. V., CAPELO J. L., BENDICHO C.; Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, v.53 p.433-441. 2000.

- [76] MARIN A., LÓPEZ-GONZÁLEZ A., BARBAS C.; Development and validation of extraction methods for determination of zinc and arsenic speciation in soils using focused ultrasound: Application to heavy metal study in mud and soils. *Analytica Chimica Acta*. v.442 p. 305-318. 2001.
- [77] KORN, M.; PEREIRA, M. G.; BORGES, S. S.; Algumas Aplicações Analíticas dos Ultras-sons. *Boletim da Sociedade Portuguesa de Química*. Lisboa, v. 96, p.51-56, 2005.
- [78] JÚNIOR, D. S.; KRUG, F. J.; KORN, M.; Extrações assistidas por ultrassom. In. KRUG, F. J.; Métodos de preparo de amostras. Fundamentos sobre prepare de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. Edição Francisco José Krug. 1º Edição. Piracicaba (SP). p.79-103. 2010.
- [79] SUSLICK, K. S.; DIDENKO, Y.; FANG, M. M.; HYEON, T.; KOLBECK, K. J.; MACNAMARA, W. B.; MDLELENI, M. M.; WONG, M.; Acoustic cavitation and its chemical consequences. *Philosophical Transaction of The Royal Society of London. Series A – Mathematical Physical anda Engineering Sciences*, London. v. 357, n. 1751, p.335-353. 1999.
- [80] JÚNIOR, D. S. V Workshop sobre preparo de amostras. Apresentação Palestra. <allchemistry.iq.usp.br/agregando/wpa/Palestra18.pdf> Acessado em 15 de Novembro de 2015.
- [81] SUSLICK, K. S.; Sonochemistry. *Science*. Washington, v.247, p.1439-1447. 1990.
- [82] LUQUE-GARCÍA, J. L.; CASTRO, M. D. L.; Ultrasound: a powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry*. v.22, p.41-47. 2003.
- [83] KORN M., ANDRADE M. V. A. S., BORGES S. S.; Procedimentos analíticos assistidos por ultrassom. *Revista Analytica*. V.3, p.34-39. 2003.
- [84] ASHLEY, K.; Ultrasonic extraction and field portable anodic stripping voltammetry of lead from environmental samples. *Electroanalysis*. v.7, p.1189–1192. 1995.
- [85] CHMILENKO, F. A.; SMITYUK, N. M.; BAKLANOV, A. N.; Atomic absorption determination of metals in soils using ultrasonic sample preparation. *Journal of Analytical Chemistry*. v.57, p.313–317. 2002.
- [86] AMOEDO, L.; CAPELO, J. L.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C.; Ultrasound-assisted extraction of lead from solid samples: a new perspective on the slurry-based sample preparation methods for electrothermal atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. v.14, p.1221–1226. 1999.

- [87] ARRUDA, S. C. C.; RODRÍGUEZ, A. P. M.; ARRUDA, M. A. Z.; Ultrasound-assisted Extraction of Ca, K and Mg from In Vitro Citrus Culture. *Journal Brazilian Chemical Society*. v.14, p.470-474. 2003.
- [88] LIVA, M.; MUÑOZ-OLIVAS, R.; CÁMARA, C.; Determination of Cd in sonicate slurries and leachates of biological and environmental materials by FI-CV-AAS. *Talanta*. v.51, p.381-387. 2000.
- [89] ZAKHAROVA, E. A.; DERYABINA, V. I.; SLEPCHENKO, G. B.; Optimization of the Voltammetric Determination of Arsenic in Foodstuffs. *Journal of Analytical Chemistry*. v.60, p.503-507. 2005.
- [90] AZOUZI, H. E.; CERVERA, M. L.; DE LA GUARDIA, M.; Multi-elemental analysis of mussel samples by atomic absorption spectrometry after room temperature sonication. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. v.13, p.533–538. 1998.
- [91] BANGROO, P. N.; JAGGA, C. R.; ARORA, H. C.; RAO, G. N.; Spectrometric determination of wear metals and additive elements in lubricating oils by AAS and ICP-AES. *Atomic Spectroscopy*. v.16, p.118-120. 1995.
- [92] FONTANA, A.; BRAEKMAN-DANHEUX, C.; JUNG, C. G.; Ultrasonic removal of heavy metals from waste oils. *Fuel Processing Technology*. v.48, p.107-113. 1996.
- [93] NASCENTES, C. C.; KORN, M.; ARRUDA, M. A. Z.; A fast ultrasound-assisted extraction of Ca, Mg, Mn and Zn from vegetables. *Microchemical Journal*. v.69, p.37-43. 2001.
- [94] CAPOTE, F. P.; CASTRO, M. D. L.; Ultrasound in analytical chemistry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. v.387, p.249-257. 2007.
- [95] SCHWANZ, M.; FERREIRA, J. J.; FRÖEHLICH, P.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T.; Análise de metais pesados em amostras de *Peumus boldus* Mol. (Monimiaceae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. v.18, p.98-101. 2008.
- [96] FILGUEIRAS, A. V.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C.; Ultrasound-assisted solubilization of trace and minor metals from plant tissue using ethylenediaminetetraacetic acid in alkaline medium. *Fresenius Journal Analytical Chemistry*. v.369, p.451-456. 2001.

- [97] SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R.; Fundamentos de Química Analítica – tradução da 9^a edição norte americana. Tradução Técnica Robson Mendes Matos. Editora Cengage Learning. 2014.
- [98] WELZ, B.; SPERLING, M.; Atomic Absorption Spectrometry. Third, Completely Revised Edition. Wiley-VCH. ISBN: 978-3-527-28571-6. 965 p. 1999.
- [99] SANTOS, L. M. G.; Estudo de diferentes técnicas da espectrometria de absorção atômica na determinação de elementos inorgânicos em matrizes de interesse sanitário. Tese Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz. 145 p. 2009.
- [100] TAKASE, I.; PEREIRA, H. B.; LUNA, A. S.; GRINBERG, CAMPOS, P.; R. C.; A geração química de vapor em espectrometria atômica. Química Nova, v. 25, p. 1132-1144, 2002.
- [101] MICARONI, R. C. C. M.; BUENO, M. I. M. S.; JARDIM, W. F.; Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. Química Nova, v. 23, p.487-495. 2000.
- [102] JANKOWSKI, K. J.; RESZKE, E.; Microwave Induced Plasma Analytical Spectrometry. The Royal Society of Chemistry. Analytical Spectroscopy Monographs No. 12. ISBN: 978-1-84973-052-5. 263p. 2011.
- [103] JARVIS, K. E.; GRAY, A. L.; Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry. Blackie & Son Limited. New York. 380p. 1992.
- [104] LI, W.; SIMMONS, P.; SHRADER, D.; HERRMAN, T. J.; DAI, S. Y.; Microwave plasma-atomic emission spectrometry as a tool for the determination of copper, iron, manganese, and zinc in animal feed and fertilizer. Talanta, v. 112, p. 43 – 48. 2013.
- [105] SIEMENS, V.; HARJU, T.; LAITINEN, T.; LARJAVA, K.; BROEKERT, J. A. C.; Applicability of microwave induced plasma optical emission spectrometry (MIP-OES) for continuous monitoring of mercury in flue gases. Fresenius Journal Analytical Chemistry. v351. p.11-18. 1995.
- [106] NIEDZIELSKI, P.; KOZAK, L.; WACHELKA, M.; JAKUBOWSKI, K.; WYBIERALSKA, J.; The microwave induced plasma with optical emission spectrometry (MIP-OES) in 23 elements determination in geological samples. Talanta. V. 132. P. 591-599. 2015.

- [107] HETTIPATHIRANA, T.; Determination of metals in soils using the 4100 MP-AES. Application Note. Agriculture. N° 5990-8914EN. 2011.
- [108] NHAM, T. & TAYLOR, C; Cost-effective analysis of major, minor and trace elements in foodstuffs using the 4100 MP-AES. Application Note. Foods and Beverages. N° 5990-8685EN. 2011.
- [109] AMAIS, R. S.; DONATI, G. L.; SCHIAVO, D.; NOBREGA, J. A.; Determination of silicon in diesel and biodiesel by Microwave Plasma-Atomic Emission Spectrometry. Application Note. Energy and Fuels. N° 5991-0490EN. 2012.
- [110] AMAIS, R. S.; DONATI, G. L.; SCHIAVO, D.; NOBREGA, J. A.; A simple dilute-and-shoot procedure for Si determination in diesel and biodiesel by microwave-induce plasma optical emission spectrometry. Microchemical Journal.v. 106. p. 318 – 322. 2013
- [111] LOWENSTERN, P. & REISMAN, E.; Direct measurement of metallic impurities in petroleum fuels using the 4100 MP-AES. Application Note. Energy and Fuels. N° 5990-8973EN. 2011.
- [112] DONATI, G. L.; AMAIS, R. S.; SCHIAVO, D.; NOBREGA, J. A.; Determination of Cr, Ni, Pb and V in gasoline and ethanol fuel by microwave plasma optical emission spectrometry. Journal Analytical Spectrometry, v. 28. p. 755 – 759. 2013.
- [113] WANG, J.; Analytical Electrochemistry. 3 ed., Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc. 250p. 2006.
- [114] BARD, A. J.; FAULKNER, L. R.; Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications. 2 ed, John Wiley & Sons Inc. New York. 2000.
- [115] RODRIGUES, S., MUNICHANDRAIAH, N., SHUKLA, A. K., A cyclic voltammetric study of the kinetics and mechanism of electrodeposition of manganese dioxide, Journal of Applied Electrochemistry. v.28. p.1235–1241. 1998.
- [116] CROW, D. R.; Principles and applications of electrochemistry. London, ed. B. A. Professional. 1994.
- [117] SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A.; Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. Química Nova. v. 26, n° 1. p.81-89. 2003.

- [118] SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TOLEDO, R. A.; PEDROSA, V. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S.; Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: Aplicações. *Química Nova*. v. 27, nº 5. p.790-797. 2004.
- [119] WANG, J.; TIAN, B.M.; WANG, J. Y.; LU, J. M.; OLSEN, C.; YARNITZKY, C.; OLSEN, K.; HAMMERSTROM, D.; BENNETT, W. Stripping analysis into the 21st century: faster, smaller, cheaper, simpler and better. *Analytica Chimical Acta*. v.385. p.429-435. 1999.
- [120] RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: Instituto Agronômico, 285p. 2001.
- [121] <<http://www.peninsulafertilizantes.com.br/produtos/tecnico/>> Acessado em 02 de Outubro de 2015
- [122] CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S.; Métodos de análise química, mineralógica e física de solo do Instituto Agronômico de Campinas. Campinas: Instituto Agronômico. Boletim Técnico nº 106, Edição Revista e Atualizada, 77p. 2009.
- [123] WALKLEY, A.; BLACK, J.A.; An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, v.37, p.29-38. 1934.
- [124] LO COCO, F.; CECCON, L.; Ciraolo, L.; NOVELLI V.; Determination of cadmium (II) and zinc (II) in olive oils by derivative potentiometric stripping analysis. *Food Control*, v.14, p55–59. 2003.
- [125] PEDROTTI, J. J.; ANGNES, L.; GUTZ, I. G. R.; Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions. *Electroanalysis*, v.8, p.673–675. 1996.
- [126] MUÑOZ, R. A. A.; CORREIA, P. R. M.; NASCIMENTO, A. N.; SILVA, C. S.; OLIVEIRA, P.; ANGNES, L.; Electroanalysis of crude oil and petroleum-based fuel for trace metals: evaluation of different microwave-assisted sample decompositions and stripping techniques. *Energy Fuels*, v.21, p.295–302. 2007.
- [127] RONQUIM, C. C.; Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, ISSN 1806-3322. 26p. 2010.
- [128] VITTI, G. C.; TREVISAN, W.; Manejo de macro e micronutrientes para alta produtividade da soja. Potafos, Encarte Técnico. Informações Agronômicas nº 90. 16p. 2000.

- [129] BORKERT, C. M.; YORINORI, J. T.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; SFREDO, G. J.; Seja o doutor da sua soja. *Potafos, Arquivo do Agrônomo* nº 5, *Informações Agronômicas* nº 66. 17p. 1994.
- [130] ANJOS, A.R.M.; MATTIAZZO, M.E.; Extratores para Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn em latossolos tratados com bioassídos e cultivados com milho. *Scientia Agricola*, v.58, p.337-344. 2001.
- [131] ANDRADE, M. G.; MELO, V. F.; GABARDO, J.; SOUZA, L. C. P.; REISSMANN, C. B.; Metais pesados em solos de área de mineração e metalurgia de chumbo: I - Fitoextração. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.33, p.1829-1836. 2009.
- [132] PEREIRA, M. G.; PÉREZ, D. V.; VALLADARES, G. S.; SOUZA, J. M. P. F.; ANJOS, L. H. C.; Comparação de métodos de extração de cobre, zinco, ferro e manganês em solos do estado do rio de janeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. v.25, p.655-660. 2001.
- [133] ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; BERTON, R.S.; Análises químicas de solo para metais pesados. In: ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.F.G.R; BASTOS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (Ed). *Tópicos em Ciência do Solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.2, pp. 645- 692. 2002.
- [134] ALMEIDA, E. L.; MARCOS, F. C. C.; SCHIAVINATO, M. A.; LAGÔA, A.M.M.A.; ABREU, M. F.; Crescimento de feijão-de-porco na presença de chumbo. *Bragantia*, Campinas, v. 67, n. 3, p.569-576. 2008.
- [135] SOARES, M. R.; Coeficiente de distribuição (Kd) de metais pesados em solos de São Paulo. Tese de Doutorado. São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 214p. 2004.
- [136] ZEITTOUNI, C. F.; BERTON, R. S.; ABREU, C. A.; Fitoextração de cádmio e zinco de um latossolo vermelho-amarelo contaminado com metais pesados. *Bragantia* v. 66, n.4, p.649-657. 2007.
- [137] SANTOS, O. S.; Manejo de macro e micronutrientes para alta produtividade da soja. *Potafos, Encarte Técnico. Informações Agronômicas* nº 85. 8p. 1999.
- [138] SILVA, N. A. F. et al; Simultaneous monitoring of toxic metals on white poplar (*populus*) by SWASV. *Journal Brazilian Chemical Society*, v. 16, n.6a, p.1275-1282. 2005.

- [139] MUNOZ, R. A. A.; ALMEIDA, E. S.; ANGNES, L.; Sample Preparation Techniques for the Electrochemical Determination of Metals in Environmental and Food Samples, Elsevier Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, Elsevier, 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.05750-4>.
- [140] LIMA-HERMES, M.; PEREIRA, B.; BECHARA, E. J. H.; Are free radicals involved in lead poisoning? *XENOBIOTICA*, v.21, p.1085-1090. 1991.
- [141] ALLEN, L. B.; SIITONEN, P. H.; HAROLD, C.; THOMPSON, J.; Determination of copper, lead, and nickel in edible oils by plasma and furnace atomic spectroscopies. *JAOCS*. v.75, p.477-481, 1998.
- [142] JIMÉNEZ, M. S.; VELARTE, R.; CASTILLO, J. R.; On-line emulsions of olive oil simples and ICP-MS multi-elemental determination. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 18, p.1154-1162. 2003.
- [143] DEDINA, J; Interference of volatile hydride forming elements in selenium determination by Atomic Absorption Spectrometry with Hydride Generation. *Analytical Chemistry*, v.54, n.12, p.2097-2102. 1982.
- [144] ALMEIDA, I. L. S.; COELHO N. M. M.; Direct determination of inorganic mercury in ethanol fuel by cold vapor atomic absorption spectrometry. *Energy Fuels*. V.26. p.6003–6007, 2012.

CURRÍCULO VITAE

Nome: Alexandre de Faria Lima

Data de Nascimento: 29/03/1984

Naturalidade: Campo Grande - MS

Formação acadêmica/titulação:

2009 - 2011

Mestrado em Química (Conceito CAPES 5).

Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Brasil.

Título: Desenvolvimento de métodos para o preparo de amostras de fertilizantes visando à determinação de cobre, cádmio e chumbo por espectrometria de absorção atômica, Ano de

Obtenção: 2011.

Orientador: Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz.

2006 - 2007

Especialização em Tec. Anal. Quim. com enfase em Açúcar e Alcool. (Carga Horária: 360h).

Universidade de Franca, UNIFRAN, Brasil.

Título: Determinação analítica de silício em solos e tecidos vegetais de cana-de-açúcar e a importância de sua aplicação.

Orientador: Paulo Sérgio Calefi.

2002 - 2005

Graduação em Licenciatura Plena em Química.

Universidade de Uberaba, UNIUBE, Brasil.

2000 - 2004

Curso técnico/profissionalizante.

Instituto de Escolas Técnicas e Industriais de Uberaba.

Trabalhos Relevantes dos últimos 6 anos

Artigo completo em periódico:

Título da produção: Combination of sonication and heating for metal extraction from inorganic fertilizers prior to microwave-induced plasma spectrometry determinations

Ano da Publicação: 2016

Autores: LIMA, A. F.; LIMA, F. F.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A.A.

Complemento da citação (revista, número, volume e páginas): Applied Acoustics DOI

10.1016/j.apacoust.2015.03.009

Título da produção: Fast ultrasound-assisted treatment of inorganic fertilizers for mercury determination by atomic absorption spectrometry and microwave-induced plasma spectrometry with the aid of the cold-vapor technique.

Ano da Publicação: 2015

Autores: LIMA, A. F.; COSTA, M. C.; FERREIRA, D. C.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A.A.

Complemento da citação (revista, número, volume e páginas): Microchemical Journal

DOI:10.1016/j.microc.2014.07.012

Título da produção: Alternative analytical method for metal determination in inorganic fertilizers based on ultrasound-assisted extraction

Ano da Publicação: 2011

Autores: LIMA, A. F.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A.A.

Complemento da citação (revista, número, volume e páginas): Journal of the Brazilian Chemical Society DOI 10.1590/S0103-50532011000800016

Título da produção: Análise físico-química e microbiológica do substrato orgânico Prata HT produzido por uma empresa do interior de Minas Gerais.

Ano da Publicação: 2013

Autores: CARDOSO, P. C.; FERREIRA, D. C.; LIMA, A. F.; BENJAMIN, W. S.; BEGNINI, M. L.

Complemento da citação (revista, número, volume e páginas): Enciclopédia Biosfera, v 9, p 224-234.

Título da produção: Absorção de metais tóxicos pelas fibras de cocos Nucifera L.

Ano da Publicação: 2013

Autores: SILVA, N. A.; FERREIRA, D. C.; LIMA, A. F.

Complemento da citação (revista, número, volume e páginas): Enciclopédia Biosfera, v 9, p 2779-2786.

Título da produção: Estudo de fitorremediação de solos contaminados com cádmio e chumbo empregando plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.)

Ano da Publicação: 2013

Autores: LIMA, G. M.; CORREA, T. F.; LIMA, A. F.; PONTIERI, M. H.; MUÑOZ, R. A. A.

Complemento da citação (revista, número, volume e páginas): Enciclopédia Biosfera, v 9, p 2919-2929.

Título da produção: Otimização de procedimento para extração de cádmio, chumbo e cobre em fertilizantes utilizando planejamento composto central,

Ano da Publicação: 2015

Autores: LIMA, A. F.; LIMA, F. F.; ALMEIDA, E. S.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A. A.
Complemento da citação (revista, número, volume e páginas): Revista Analytica
(Artigo Aceito para Publicação)

Trabalho completo em anais:

- Título: Efeito da presença de compostos orgânicos na remoção eletroquímica de metais presentes em efluentes
Ano da publicação: 2015
Autores: PINTO, C. F.; SOUZA, A. S.; LIMA, A. F.; GRANATO, A. C.; MALPASS, G. R. P.
Evento: 23º Simpósio Internacional de Iniciação Científica e Tecnológica da USP. São Carlos – SP.
- Título: Evaluation of the formation of HOCl/OCI⁻, subsequent UV photolysis and degradation of organics by AOPs
Ano da publicação: 2013
Autores: FLORÊNCIO, T. M.; LIMA, A. F.; MALPASS, G. R. P.
Evento: International Ozone Association Conference and Exhibition: Ozone and Related Oxidants in Safe Water Along its Cycle. Berlin - Alemanha
- Título: Absorção de metais tóxicos pelas fibras do Cocos Nucifera L..
Ano da publicação: 2012
Autores: SILVA, N. A. ; FERREIRA, D. C. ; LIMA, A. F. ; LIMA, F. F.
Evento: 5º Congresso Iberoamericano de Química Analítica 2º Congreso Uruguayo de Química Analítica. Montevideo - Uruguay

Resumo em anais:

- Título: Application of Experimental Planning in Electrochemical Production of Free Chlorine Species and Subsequent Pesticide Removal
Ano da publicação: 2015
Autores: ARAUJO, K. S. ; LIMA, A. F. ; OLIVEIRA, M. C. ; Malpass, Geoffroy R. P.
Evento: VIII Meeting on Environmental Applications of Advanced Oxidation Processes. Belo Horizonte – Minas Gerais.

Título: Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of metals from inorganic fertilizers.

Ano da publicação: 2014

Autores: Lima, A. F. ; Lima, F. F. ; Richter, E. M. ; Muñoz, Rodrigo A. A.

Evento: 1st international conference on ultrasonic-based applications: from analysis to synthesis. Caparica - Portugal

Título: Fast ultrasound-assisted treatment of inorganic fertilizers for mercury determination by atomic absorption spectrometry and microwave-induced plasma spectrometry with the aid of the cold-vapor technique.

Ano da publicação: 2014

Autores: Lima, A. F. ; Lima, F. F. ; Costa, M. C. ; Ferreira, D. C. ; Mathias Richter, Eduardo ; Muñoz, Rodrigo A. A.

Evento: 1st international conference on ultrasonic-based applications: from analysis to synthesis. Caparica – Portugal

➔ **Prêmio de Melhor Poster**

Título: Determinação De Pb Em Gasolina De Aviação Por Voltametria De Onda Quadrada Utilizando Eletrodo Impresso De Ouro E Analise Por Injeção Em Batelada Após Digestão Em Ultrassom.

Ano da publicação: 2014

Autores: Almeida, E.S.; LIMA, A. F. ; TORMIN, T. F. ; MUNÓZ, R. A. A ; RICHTER, E. M .

Evento: XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas – Minas Gerais.

➔ **Menção Honrosa na área de Eletroquímica e Eletroanalítica**

Título: Emprego de banho de ultrassom no tratamento de amostra de fertilizante mineral para determinação de mercúrio.

Ano da publicação: 2013

Autores: Lima, A. F. ; Costa, M. C. ; Muñoz, Rodrigo A. A.

Evento: 17º Encontro Nacional de Química Analítica. Belo Horizonte – Minas Gerais

Título: Otimização do método de extração ultrassônica de cádmio, chumbo e cobre em fertilizantes inorgânicos.

Ano da publicação: 2011

Autores: Lima, A. F. ; Lima, F. F. ; Richter, E. M. ; Munoz, Rodrigo A. A. ; Pires, N. J.

Evento: 16º Encontro Nacional de Química Analítica. Campos do Jordão – São Paulo