

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Exatas

Departamento de Química

Luciene Vertello de Resende

Desenvolvimento de métodos para análise de tortas de oleaginosas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e fluorescência de raios X por reflexão total

Orientadora: Dr^a Clésia Cristina Nascentes

Belo Horizonte

2015

UFMG/ICE_x/DQ. 1.122^a

T. 506^a

Luciene Vertello de Resende

Desenvolvimento de métodos para análise de tortas de oleaginosas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e fluorescência de raios X por reflexão total

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências - Química

Belo Horizonte

2015

R433d
2015
T

Resende, Luciene Vertello de

Desenvolvimento de métodos para análise de tortas de oleaginosas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e fluorescência de raios X por reflexão total [manuscrito] / Luciene Vertello de Resende. 2015.

[xiii], 123 f. : il.

Orientadora: Clésia Cristina Nascentes.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

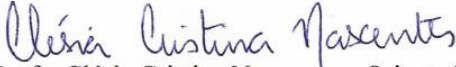
1. Química analítica - Teses 2. Fertilizantes orgânicos - Teses 3. Torta oleaginosa - Teses 4. Suspensão (Química) - Teses 5. Espectroscopia de emissão atômica - Teses 6. Espectroscopia de fluorescência - Teses I. Nascentes, Clésia Cristina, Orientadora II. Título.

CDU 043

"Desenvolvimento de Métodos para Análise de Tortas de Oleaginosas por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado e Fluorescência de Raios X por Reflexão Total"

Luciene Vertello de Resende

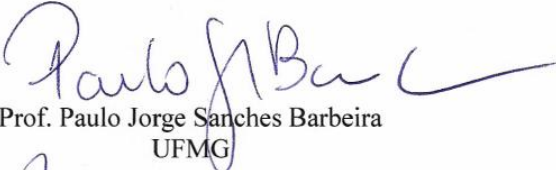
Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:



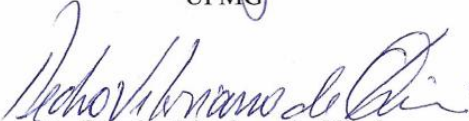
Profa. Clésia Cristina Nascentes - Orientadora
UFMG



Profa. Leticia Malta Costa
UFMG



Prof. Paulo Jorge Sanches Barbeira
UFMG



Prof. Pedro Vitoriano de Oliveira
USP



Prof. Rodrigo Alejandro Abarza Munoz
UFU

Belo Horizonte, 13 de novembro de 2015.

A vida é o dever que nós trouxemos para fazer em casa.

Quando se vê, já são seis horas!

Quando se vê, já é sexta-feira!

Quando se vê, já é natal...

Quando se vê, já terminou o ano...

Quando se vê perdemos o amor da nossa vida.

Quando se vê passaram 50 anos!

Agora é tarde demais para ser reprovado...

Se me fosse dado um dia, outra oportunidade, eu nem olhava o relógio.

Seguiria sempre em frente e iria jogando pelo caminho a casca dourada e inútil das horas...

Seguraria o amor que está a minha frente e diria que eu o amo...

E tem mais: não deixe de fazer algo de que gosta devido à falta de tempo.

Não deixe de ter pessoas ao seu lado por puro medo de ser feliz.

A única falta que terá será a desse tempo que, infelizmente, nunca mais voltará.

(O tempo – Mário Quintana)

À minha maravilhosa
mãe, Maria Vertello de
Resende, dedico.

Agradecimentos

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao Departamento de Química pela possibilidade de realização deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A FAPEMIG e VALE S.A. (CEX - RDP-00105-10) pelo apoio financeiro.

A professora Dr^a Clésia Cristina Nascentes pela orientação, disponibilidade e apoio que foram de grande contribuição para a realização deste trabalho.

Ao Dr^o Carlos Antônio de Moraes, por meio do qual me iniciei na pesquisa, um grande amigo e respeitável pesquisador que tem a minha gratidão.

Ao William F. F. Santos e ao Instituto de Geociências da UFMG - IGC pelas contribuições nas análises por ICP OES.

A Guilhermina e a Cláudia do Departamento de Metalurgia da UFMG - DEMET, também pelas contribuições nas análises por ICP OES.

Aos colegas do laboratório de preparo de amostras e espectrometria atômica, em especial Leonel da Silva Teixeira pela amizade e colaborações.

Aos colegas do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear – CDTN/CNEN pela amizade e colaborações, principalmente a Liliane, Luis, Eugênio, Marcos e Zezinho.

Aos colaboradores do DQ/UFMG pela atenção e prestação de serviços.

Aos meus familiares em especial o meu paizinho Jovem Gonçalves, minha tia Rosa Maria, minhas irmãs Lucia, Luciana e Lucineia pelo incentivo, confiança, admiração e compreensão.

À Letícia Talarico pelos conselhos e direcionamentos.

Aos meus amigos, os de perto e aos de longe, e aos colegas da COPASA, pela amizade e companheirismo.

Resumo

Nesta tese são apresentados o desenvolvimento e aplicação de dois métodos analíticos para determinação de constituintes inorgânicos em tortas de pinhão manso, girassol, nabo forrageiro, tremoço, mamona, colza, pequi e palma para avaliação de suas potencialidades para uso como fertilizantes orgânicos em relação aos teores mínimos de nutrientes e máximos de contaminantes admitidos pela legislação. O primeiro método aplicado consistiu da digestão das tortas de oleaginosas com HNO_3 e H_2O_2 em forno de micro-ondas com cavidade e posterior análise dos digeridos por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) para determinação de Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn. O desempenho do método foi avaliado pela análise de CRM 1547 – folhas de pêssigo e CRM 1570a – folhas de espinafre. De uma forma geral, as recuperações variaram de 80 – 110%, para os níveis de concentrações avaliados. A precisão, em termos de repetitividade, ficou abaixo de 5% para a maioria dos elementos avaliados. Os limites de quantificação (LQ) obtidos são adequados para análise de fertilizantes orgânicos visto que atendem os limites mínimos de nutrientes e máximos de contaminantes estabelecidos pela legislação brasileira. Foi aplicado um procedimento de extração em bloco digestor com soluções extratoras de ácido cítrico, citrato neutro de amônio e ácido dietilenotriaminopentacético seguida da determinação de Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn por ICP OES para avaliação da fração disponível de nutrientes nas tortas. A segunda parte do trabalho consistiu do desenvolvimento de um método para determinação de P, S, Cl, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr e Pb por fluorescência de raios X por reflexão total – TXRF. A influência das variáveis: massa de amostra, concentração de Triton X 114 e tempo de sonicação, sobre o preparo de suspensão foram avaliadas por meio do planejamento fatorial 2^3 com ponto central. Uma otimização univariada também foi realizada para avaliação de padrão interno utilizado (Ga ou Y) e tempo de aquisição de sinal. A seletividade, veracidade e precisão do método foram estudadas a partir de amostras fortificadas e materiais de referência certificados (CRM 029-50, NIST 1573a, NIST 1547 e NIST 1567a). Os resultados de recuperação variaram de 82-114%, para a maioria dos analitos investigados e os desvios padrões relativos foram inferiores a 11,5%. Os limites de detecção (LD) obtidos são adequados para a finalidade do método. Em relação à seletividade, conclui-se que o método não é adequado para determinação de Cd em concentrações $\leq 3 \text{ mg kg}^{-1}$, em matrizes com presença de K, devido à forte supressão do pico Cd $\text{L}\alpha$ (3.126 keV) pelo pico de K $\text{K}\alpha$ (3.313 keV). Os resultados das determinações elementares nas tortas obtidos por TXRF divergiram dos resultados

obtidos por ICP OES para alguns dos elementos avaliados. A heterogeneidade das amostras pode ter contribuído para as diferenças observadas. O método empregando TXRF merece destaque por apresentar facilidades como simplificação no preparo de amostra, menor tempo de análise e, conseqüentemente, aumento da frequência analítica, minimização do risco de contaminações, mínimas perdas por volatilização e geração de reduzidas quantidades de resíduos, além de apresentar baixo custo para aplicação. Os métodos analíticos desenvolvidos apresentaram potencialidades para serem utilizados na análise das tortas de oleaginosas, de acordo com o ministério da agricultura, pecuária e abastecimento.

Palavras Chaves: Fertilizante Orgânico, Tortas de Oleaginosas, Análise de Suspensão, ICP OES, TXRF.

Abstract

Development of methods for analysis of oilseed cakes by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry and Total Reflection X-ray Fluorescence

This work describes the development and application of two analytical methods for determination of inorganic constituents in jatropha, sunflower, turnip, lupine, castor, rapeseed, palm and pequi oil-bearing crops aiming to evaluate their potential for use as organic fertilizer. The first method consists of acid digestion in the closed-vessel-microwave system applying HNO₃ and H₂O₂. Measurements were performed using a ICP OES for determination of Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb and Zn in the biodiesel press cake. The performance of the method was evaluated by analysis of CRM 1547 - CRM peach leaves and 1570a - Spinach leaves. Recoveries are in the acceptable range of 80-110%, for the levels of concentrations evaluated. Precision in terms of repeatability, were below 5% for most elements assessed. The LQ values obtained are suitable for analysis of organic fertilizer since they achieve the minimum levels of nutrients and maximum contaminant allowed in organic fertilizers in accordance to the Brazilian legislation. An extraction procedure using block digester with citric acid, neutral ammonium citrate and diethylenetriaminepentaacetic acid was applied for Ba, Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb and Zn by ICP OES to estimate the available fraction of nutrients in biodiesel press cakes. The second part of this work consisted in the development and optimization of a method for determining P, S, Cl, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr and Pb by total reflection X-ray fluorescence - TXRF. The influence of the sample mass, Triton X-114 concentration and sonication time on the slurry preparation step were evaluated by the 2³ factorial design with center point. The optimization of the method was conducted by evaluating the following parameters: PI (Ga, or Y) and signal acquisition time. The selectivity, trueness and precision were studied from spiked samples and certified reference materials (CRM 029-50, NIST 1573a, NIST 1547 and NIST 1567a). The recovery results are in the range 82-114%, for the majority of the investigated analytes and the relative standard deviations were less than 11.5%. The obtained LD are suitable for the purpose of the method. As regards selectivity, it is concluded that the method is not suitable for determination of Cd at concentrations $\leq 3 \text{ mg kg}^{-1}$, since any possible peak of Cd L α (3.126 keV) line is strongly suppressed by K K α (3.313 keV) peak to the background level. The results of the elemental determination in press cakes obtained by TXRF were dissonant with those obtained by ICP OES for some elements assessed. The heterogeneity of the samples may have contributed to the observed differences. TXRF method is

noteworthy since it displays an easy and simple sample preparation, a shorter time of analysis and consequently a high analytical frequency, minimal risks of contamination and losses by volatilization, generation of small amounts of waste, plus it features low cost for implementation. The developed and optimized analytical methods showed characteristics that qualify them for analysis of oilseed cakes, in accordance with Brazilian legislation.

Keywords: Organic Fertilizer, Oilseeds press cake, Slurry Analysis, ICP OES, TXRF.

Lista de Figuras

Figura 1.1. Matérias primas utilizadas para a produção do biodiesel (perfil nacional). Extraída de ANP, 2015 – Boletim Mensal do Biodiesel.	5
Figura 1.2. Culturas oleaginosas utilizadas para produção do biodiesel. Fonte: Biodieselbr, 2015 – Atlas do biodiesel.	7
Figura 2.1. Etapas do programa de aquecimento em forno de microondas para digestão das amostras de tortas de oleaginosas.....	30
Figura 2.2. Distribuição do diâmetro de partículas de amostras de tortas de nabo, tremoço, pequi, colza, girassol, mamona e pinhão após moagem moagem criogênica de 15 ciclos de 2 min.	36
Figura 2.3. Digerido de torta de palma após decomposição assistida por radiação microondas – 7,0 mL HNO ₃ concentrado e 1,0 mL de H ₂ O ₂ – Programa de aquecimento do micro-ondas: rampa de aquecimento de 10 min – 30 min de aquecimento a 200°C. Tubos 85;86 e 87 representam as replicatas das análises.....	37
Figura 2.4. Curvas de calibração com matriz e sem adição de matriz para Ca, K, Co, Ni, Mg e Fe.....	39
Figura 2.5. Curvas de calibração com matriz e sem adição de matriz para Cr, Pb, Mn, Cd, Cu e Zn.	40
Figura 3.1. Evolução do número de publicações referentes à TXRF desde 1985 com o termo de busca “TXRF”. O número de publicações em 2015 é referente ao primeiro semestre. Fonte: Portal de periódicos da CAPES, 2015.....	59
Figura 3.2 Arranjo simplificado usado para (a) fluorescência de raios X convencional e para (b) TRXF. Fonte: Klockenkamper & Von Bohlen, 2001.	61
Figura 3.3. Fragmento de espectro de raios-X do material NIST 1640, em destaque a intensidade do sinal do <i>background</i> (N _{BG}) e o pico do analito Rb (N _I). Fonte: Bruker (2012).	64
Figura 3.4. Diagrama de procedimentos de preparo de amostra encontrados na literatura para sólidos, líquidos e gases. Adaptado de De La Calle et al., 2013.....	66
Figura 3.5. Espessura máxima da amostra no disco (a); indicação do diâmetro máximo para adição de amostra no disco (b). Fonte: Bruker, 2012.....	68
Figura 3.6. Esquema de preparo de amostra no disco de quartzo, incluindo a etapa de hidrofobização, adição de amostra e medida no TXRF. Fonte: De La Calle et al., 2013).....	69
Figura 3.7. Sistema sonoreator do tipo <i>cup horn</i> empregado no procedimento de preparo da amostra: Esquema (a), fotografia (b) e (c) tubo de polipropileno com capacidade para 5,0 mL. Extraída de Teixeira, 2014.	75
Figura 3.8. Descrição de procedimento para limpeza dos discos de quartzo utilizados como porta amostras. Fotos extraídas de Bruker, 2012.	77

Figura 3.9. Suporte utilizado para orientação da adição de amostra no centro do disco de quartzo.	77
Figura 3.10. Gráfico de Pareto com as respostas múltiplas de porcentagem de recuperação do planejamento fatorial 2^3 com ponto central.....	84
Figura 3.11. Intensidade fluorescente de Ca, K, P, Mn, Rb, S, Zn, Ni e Cu em função da massa de amostra suspensa em 2,5 mL de solução 0,1 %v v ⁻¹ de Triton X 114 (massas de 10 e 50 mg) e 0,55 %v v ⁻¹ de Triton X 114 (massa de 30 mg).	86
Figura 3.12. Diagrama do planejamento fatorial 2^3 com ponto central mostrando as interações entre as variáveis: massa de amostra, tempo de ultrassom e concentração de Triton X 114 na recuperação dos analitos.....	87
Figura 3.13. Gráfico de Pareto com as respostas múltiplas obtidas a partir do LD no planejamento fatorial 2^3 com ponto central.....	89
Figura 3.14. Efeito da concentração de Triton X 114 na radiação de fundo: a) 10 mg de amostra suspensa em 2,5 mL de dispersante; b) 50 mg de amostra suspensa em 2,5 mL de dispersante. .	90
Figura 3.15. Fotografias das suspensões preparadas com 10 mg de NIST 1570a: 0,1% Triton X 114 com 4 min de sonicação (a) e com 12 min (b); 1% Triton X 114 com 4 min de sonicação (c) e com 12 min (d).	91
Figura 3.16. Disco de quartzo com a suspensão de CRM NIST 1570a (a) antes da secagem; (b) após secagem.	91
Figura 3.17. Efeito da variação de massa no preparo de suspensão de CRM NIST 1570a. As barras de erros representam o desvio padrão de três replicatas independentes.....	93
Figura 3.18. Fragmento de espectro de raios X de CRM NIST 1570a mostrando as linhas de emissão de Rb L α (1,691 keV), Si K α (1,739 keV) e Sr L α (1,804 keV).....	93
Figura 3.19. Efeito da massa de amostra de CRM NIST 1570a no LD de Ca, K, Rb, Cl, S, P, Br, Rb, Zn, Sr, Cu, Ni, Fe, Mn, Cr e Ti.....	94
Figura 3.20. Fragmento de espectro de raios X de CRM NIST 1570a, em destaque os padrões internos Ga e Y.....	95
Figura 3.21. Espectro de raios X de CRM 029-50 no intervalo de energia de Cd L α (3,126 keV) a Mo K α (17,5 keV). Em destaque as sobreposições dos picos de Cd L α , Co K α e As K α	99
Figura 3.22. Fragmentos dos espectros de raios X de NIST 1570a sem procedimento de extração (vermelho) e após extração (preto).....	101
Figura 3.23. Fragmento de espectro de raios X CRM 029-50 destacando as sobreposições de picos fluorescentes de IrL α (9,175 keV) e GaK α (9,250 keV); Pb L α (10,551 keV) e As K α (10,543 keV).....	102

Lista de Tabelas

Tabela 1.1. Percentuais das matérias primas utilizadas para a produção de biodiesel por região em abril de 2015. Fonte: ANP, 2015– Boletim Mensal do Biodiesel.....	6
Tabela 1.2. Reaproveitamento dos subprodutos da produção do biodiesel	8
Tabela 1.3. Teores mínimos de nutrientes para fertilizantes orgânicos sólidos (Brasil, 2009).....	11
Tabela 1.4. Limites máximos de contaminantes admitidos em fertilizantes orgânicos (Brasil, 2006).....	12
Tabela 2.1. Decomposição assistida por radiação micro-ondas de materiais vegetais	23
Tabela 2.2 – Parâmetros instrumentais empregados para determinação de Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras digeridas e extratos de tortas de palma, pinhão, girassol, nabo, tremoço, mamona, colza e pequi, por ICP OES.	29
Tabela 2.3. Faixas de concentração das curvas de calibração usada na avaliação do efeito de matriz e na determinação de metais em tortas de oleaginosas.	32
Tabela 2.4 – Distribuição granulométrica das partículas de tortas de oleaginosas após moagem criogênica de 15 ciclos de 2 min.	35
Tabela 2.5. Limites de Detecção e Quantificação estimados por meio da avaliação de brancos analíticos, e valores mínimos de nutrientes e máximos de contaminantes permitidos em fertilizantes orgânicos, de acordo com a legislação (Brasil, 2006; 2009).....	41
Tabela 2.6. Valores certificados e concentrações determinadas (média \pm desvio padrão) para os CRM de folha de pêsego e folha de espinafre, precisão e recuperação para o método proposto.	43
Tabela 2.7. Composição dos digeridos de tortas de oleaginosas (mg kg^{-1}) (média \pm desvio padrão, $n = 3$).	46
Tabela 2.8. Composição química (média \pm desvio padrão) de tortas de mamona, pinhão, girassol e nabo e sementes de mamona e nabo reportados na literatura.....	47
Tabela 2.9. Desvio padrão relativo das determinações dos analitos nas tortas ($n = 3$).	48
Tabela 2.10. Porcentagem de extração de Ca, Mg, Mn, Fe e Zn em tortas de oleaginosas empregando os extratores AC, CNA e DTPA.	49
Tabela 2.11. Valores referentes à determinação elementar de C e N nas tortas (média \pm desvio padrão).....	51
Tabela 3.1 Determinação multielementar por TXRF na análise de matrizes diversas.	71
Tabela 3.2. Condição de cada ensaio do planejamento fatorial 2^3 com repetição no ponto central para o procedimento de preparo de amostra.....	79
Tabela 3.3 Resultado do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para estudar o efeito da massa de amostra, concentração de Triton X 114 e tempo de sonicação sobre a porcentagem de recuperação dos elementos certificados no CRM NIST 1570a.....	83

Tabela 3.4 Dados normalizados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para estudar o efeito da massa de amostra, concentração de Triton X 114 e tempo de sonicação sobre a porcentagem de recuperação dos elementos certificados no CRM NIST 1570a.	84
Tabela 3.5 Resultado do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para estudar o efeito da massa de amostra, concentração de Triton X 114 e tempo de sonicação sobre o LD dos elementos certificados no CRM NIST 1570a.	88
Tabela 3.6. Dados normalizados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para estudar o efeito da massa de amostra, concentração de Triton X 114 e tempo de sonicação sobre o LD dos elementos certificados no CRM NIST 1570a.	88
Tabela 3.7. Resultados experimentais da porcentagem de recuperação dos elementos no CRM NIST 1570a empregando Ga e Y como PI e valor de t calculado pelo teste t de Student (t Tabelado para n = 4, $\alpha = 0,05$ é 2,78). Média \pm desvio padrão.....	96
Tabela 3.8. Efeito do tempo de medida do TXRF no LD de Ca, K, Rb, Cl, S, P, Br, Rb, Zn, Sr, Cu, Ni, Fe, Mn, Cr e Ti em CRM NIST 1570a.	97
Tabela 3.9. Resultado de recuperação de Cr, Ni, As, Se e Pb em tortas de nabo, pequi e tremoço fortificadas.....	99
Tabela 3.10. Resultados obtidos para avaliação do procedimento de extração de K do NIST 1570a.	101
Tabela 3.11. Resultados obtidos da avaliação dos materias CRM 029-50, NIST 1547, NIST 1573a e NIST 1567a.....	103
Tabela 3.12. Intervalo de concentração dos CRM NIST 1567a, NIST 1547, NIST 1573a e CRM 029-50 e seus respectivos resutados de porcentagem de recuperação, DPR, LQ e LD.	105
Tabela 3.13. Resultados experimentais das análises de tortas de palma e girassol por TXRF e comparação com as determinações por ICP OES.	107
Tabela 3.14. Resultados experimentais das análises de tortas de nabo e mamona por TXRF e comparação com as determinações por ICP OES.	108
Tabela 3.15. Resultados experimentais das análises de tortas de pequi e pinhão por TXRF e comparação com as determinações por ICP OES.	109
Tabela 3.16. Resultados experimentais das análises de tortas de tremoço e colza por TXRF e comparação com as determinações por ICP OES.	110
Tabela 3.17. Porcentagem de recuperação dos analitos K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu e Zn nas tortas de oleaginosas determinados por TXRF e por ICP OES, sendo os resultados do ICP OES considerados como 100%.....	111

Lista de Acrônimos

AC	Ácido Cítrico
AGE	Assessoria de Gestão Estratégica
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.
BEC	Background equivalent
CCD	Planejamento do composto central (CCD- Composite Central Design)
CNA	Citrato Neutro de Amônio
CRM	Material de Referência Certificado
DPR	Desvio Padrão Relativo
DTPA	Ácido Dietilenotriaminopentacético
EDXRF	Fluorescência de raios X por Dispersão de Energia (EDXRF - Energy Dispersive X-ray Fluorescence)
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chamas (FAAS- Flame Atomic Absorption Spectrometry)
HGAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (HGAAS- Hydrete Generation Atomic Absorption Spectrometry)
ICP OES	Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES – Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MMQO	Método dos Mínimos Quadrados Ordinários
MW	Micro-Ondas
NIST	National Institute of Standards and technology
PA	Pro análise
PC	Ponto central
PI	Padrão Interno
PPB	Parte por bilhão
SBR	Sinal do Background
SDA	Secretária Nacional de Defesa Agropecuária
SDD	Silicon Drift Detector
TXRF	Total Reflection X-ray Fluorescence
UFLA	Universidade Federal de Lavras
UFPA	Universidade Federal do Pará
USA	United States of America
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA – United State Environmental Protection Agency)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 1 – BIODIESEL E LEGISLAÇÃO PARA FERTILIZANTES ORGÂNICOS	4
1.1 BIODIESEL	4
1.1.1 <i>Subprodutos da Produção do Biodiesel</i>	7
1.2 FERTILIZANTES ORGÂNICOS	9
1.2.1 <i>Tortas de oleaginosas Utilizadas como Fertilizantes Orgânicos</i>	12
1.3 REFERÊNCIAS	15
CAPÍTULO 2 – DETERMINAÇÃO ELEMENTAR DE CONSTITUINTES INORGÂNICOS EM TORTAS DE OLEAGINOSAS POR ICP OES APÓS DIGESTÃO ÁCIDA ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS	21
2.1 INTRODUÇÃO	21
2.1.1 <i>Aplicações da Decomposição Assistida por Radiação Micro-Ondas em Matrizes Vegetais</i>	22
2.1.2 <i>Disponibilidade de Nutrientes em Fertilizantes Orgânicos</i>	24
2.1.3 <i>Extratores Empregados na Avaliação da Disponibilidade de Nutrientes e Metais Tóxicos no Solo</i>	24
2.2 OBJETIVOS	26
2.3 PARTE EXPERIMENTAL	27
2.3.1 <i>Amostras e Materiais de Referência Certificado (CRM)</i>	27
2.3.2 <i>Reagentes e Soluções</i>	27
2.3.3 <i>Equipamentos e Acessórios</i>	28
2.3.4 <i>Procedimentos de Preparo das Amostras</i>	30
2.3.4.1 <i>Procedimento de Digestão Assistido por Radiação Micro-ondas em Forno com Cavidade</i>	30
2.3.4.2 <i>Procedimento de Extração em Bloco Digestor</i>	31
2.3.4.3 <i>Procedimento para Escolha das Linhas de Emissão dos Analitos e Configuração Axial ou Radial Empregadas no ICP OES</i>	31
2.3.5 <i>Avaliação dos Parâmetros de Desempenho do Método de Digestão em Forno de Micro-ondas com Cavidade e ICP OES</i>	32
2.3.5.1 <i>Efeito de Matriz</i>	32
2.3.5.2 <i>Limite de Detecção e Quantificação</i>	32
2.3.5.3 <i>Veracidade e Precisão</i>	33
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
2.4.1 <i>Pré Tratamento da Amostra</i>	35
2.4.2 <i>Digestão Assistida por Radiação Micro-Ondas</i>	37
2.4.3 <i>Efeito de Matriz e Limites de Detecção e Quantificação</i>	38
2.4.4 <i>Veracidade e Precisão</i>	41
2.4.5 <i>Avaliação dos Teores de Nutrientes e Contaminantes Presentes nas Tortas de Oleaginosas</i>	44
2.4.6 <i>Teor Total x Disponibilidade</i>	48
2.4.7 <i>Relação Carbono/Nitrogênio</i>	50
2.5 CONCLUSÃO	52
2.6 REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO 3 – ANÁLISE RÁPIDA DE TORTAS DE OLEAGINOSAS POR EPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR REFLEXÃO TOTAL	59
3.1 INTRODUÇÃO	59
3.2 <i>Fluorescência de raios X por Reflexão Total</i>	61
3.2.1 <i>Análise Quantitativa em TXRF</i>	62
3.2.2 <i>Limite de Detecção em TXRF</i>	63
3.2.3 <i>Preparo de Amostras Empregado na Análise por TXRF</i>	65
3.2.4 <i>Etapas de Preparo na Análise por TXRF</i>	67

3.3 EXPLORANDO O ESTADO DA ARTE DAS ANÁLISES QUANTITATIVAS POR TXRF	69
3.4 OBJETIVOS.....	73
3.5 PARTE EXPERIMENTAL	74
3.5.1 Amostras e Materiais de Referência Certificado (CRM).....	74
3.5.2 Reagentes e Soluções.....	74
3.5.3 Equipamentos e Acessórios	74
3.5.4 Procedimento de Limpeza e Deposição da Amostra nos Discos de Quartzo	76
3.5.4.1 Limpeza dos Discos de Quartzo	76
3.5.4.2 Adição da Amostra no Disco de Quartzo	77
3.5.5 Otimização do Procedimento de Preparo da Suspensão.....	78
3.5.5.1 Otimização Multivariada - Planejamento Fatorial 2^3 com Triplicata no Ponto Central.....	78
3.5.5.2 Avaliação do Efeito da Massa de Amostra na Precisão das Medidas.....	79
3.5.6 Otimização das Condições de Análise no PICOFOX.....	80
3.5.6.1 Otimização do Padrão Interno (PI).....	80
3.5.6.2 Procedimento para Avaliação do Tempo de Medida (tempo de aquisição do sinal)	80
3.5.7 Avaliação de Desempenho do Método	80
3.5.7.1 Seletividade	80
3.5.7.2 Procedimento para Extração de Potássio para Quantificação de Cádmiio.....	81
3.5.7.3 Veracidade e Precisão.....	81
3.5.8 Aplicação do Método Otimizado na Análise das Tortas	82
3.6 RESULTADOS	83
3.6.1 Otimização do Procedimento de Preparo da Suspensão.....	83
3.6.1.1 Planejamento Fatorial 2^3 com Triplicata no Ponto Central	83
3.6.1.2 Avaliação do Efeito da Massa na Precisão das Medidas.....	92
3.6.2 Otimização das Condições de Análise no PICOFOX.....	95
3.6.2.1 Avaliação do Padrão Interno	95
3.6.2.2 Avaliação do Tempo Efetivo de Medida (tempo de integração do sinal).....	96
3.6.3 Método Otimizado	97
3.6.4 Avaliação de Desempenho do Método	97
3.6.4.1 Avaliação da Seletividade do Método	97
3.6.4.2 Extração de Potássio.....	100
3.6.4.3 Avaliação de Figuras de Mérito do Método: Veracidade, Precisão e Limites de Detecção e Quantificação	101
3.6.5 Aplicação do Método na Análise das Tortas.....	106
3.7 CONCLUSÃO	113
3.8 REFERÊNCIAS	114
CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	123

Introdução

A preocupação com o aquecimento global e a possibilidade de escassez de combustíveis fósseis são questões que motivam a discussão sobre novas fontes de energia, sobretudo renováveis. O biodiesel, na condição de combustível renovável, vem ganhando destaque e incentivos governamentais para a sua utilização. Entretanto, a sua produção gera resíduos e subprodutos que devem ser criticamente avaliados, pois podem representar um fator limitante para a viabilidade econômica do processo.

As oportunidades para o aproveitamento dos resíduos e subprodutos da produção do biodiesel são diversas. Neste trabalho é feita a análise das tortas para determinação de macro, micronutrientes e contaminantes e a avaliação da conformidade destes frente à legislação para fertilizantes orgânicos.. No Brasil, a necessidade de monitoramento da qualidade de fertilizantes orgânicos foi formalizada com a publicação das Instruções Normativas SDA nº 27, de 09 de junho de 2006 (Brasil, 2006) e SDA nº 25 de 28 de julho de 2009 (Brasil, 2009).

As análises de fertilizantes seguem os métodos oficiais do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (Brasil, 2007). Esses métodos descrevem os procedimentos analíticos para determinação de B, Ca, Cl, Co, Cu, S, Fe, Mn, Mg, Mb, Ni, N, P, Si e Zn. Para os elementos tóxicos, o MAPA reconhece os métodos 3050B e 3051 da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA). De acordo com o proposto nesses métodos, são necessárias pelo menos quatro técnicas analíticas diferentes para se quantificar todos os analitos previstos nas instruções normativas, o que demanda muito tempo, esforços e alto custo.

A utilização de materiais orgânicos para produção de fertilizantes exige controle de qualidade contínuo, pois a concentração de nutrientes e elementos tóxicos pode variar, dependendo do tipo e origem do material. Além disso, muitas vezes, o fertilizante orgânico pode ser produzido a partir da mistura de diferentes rejeitos. Neste contexto, o desenvolvimento de métodos analíticos mais rápidos e confiáveis é relevante, pois possibilita uma maior versatilidade no controle de qualidade do processo de produção dos fertilizantes. Neste sentido, técnicas analíticas multielementares tem se mostrado interessantes, pois possibilitam a determinação simultânea dos nutrientes e contaminantes e são o foco deste trabalho cujo objetivo geral é o desenvolvimento de métodos para análise de tortas de oleaginosas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado - ICP OES e fluorescência de raios X por reflexão total – TXRF.

A redação da tese está dividida em quatro capítulos:

O Capítulo 1 aborda a inclusão do biodiesel na matriz energética brasileira e os subprodutos gerados da sua produção. Menciona a legislação brasileira para fertilizantes orgânicos e apresenta alguns trabalhos que reportam o uso de tortas de oleaginosas como fertilizantes orgânicos.

O Capítulo 2 apresenta o desenvolvimento do método de análise das tortas por digestão em forno de micro-ondas e quantificação por ICP OES. A partir dos resultados obtidos foi feita a avaliação da potencialidade das tortas para uso como fertilizantes orgânicos em relação aos teores mínimos de nutrientes exigidos e máximos de contaminantes admitidos pela legislação brasileira para fertilizantes orgânicos.

O Capítulo 3 aborda o princípio da fluorescência de raios X por reflexão total – TXRF, a exploração do estado da arte na análise quantitativa aplicando essa técnica, o desenvolvimento do método e os resultados das análises das tortas por TXRF.

Por fim, o Capítulo 4 apresenta as considerações finais.

CAPÍTULO 1

Revisão Bibliográfica

Biodiesel e Legislação para Fertilizantes
Orgânicos

Capítulo 1 – Biodiesel e Legislação para Fertilizantes Orgânicos

1.1 Biodiesel

A utilização de energias alternativas tornou-se prioridade para o mundo frente ao atual estágio de desenvolvimento e o biodiesel na qualidade de combustível limpo e renovável assume importância cada vez maior nessa questão (Goes et al., 2010).

O biodiesel é um substituto natural do diesel de petróleo, que pode ser produzido a partir de fontes renováveis como óleos vegetais, gorduras animais e óleos utilizados na cocção de alimentos (frituras). Pode ser obtido por diferentes processos tais como o craqueamento, a esterificação ou pela transesterificação, sendo essa última mais utilizada. A transesterificação consiste numa reação química de óleos vegetais ou de gorduras animais com álcool (etanol ou metanol) estimulada por um catalisador com a produção de ésteres metílicos ou etílicos (biodiesel) e glicerina (MME, 2015; Varanada et al., 2011).

O biodiesel tem uma longa trajetória tanto no mundo quanto no Brasil. Em 1893 o engenheiro Rudolf C. K. Diesel desenvolveu o primeiro motor a diesel do mundo abastecido com óleo de amendoim. Na década de 1920 o Brasil testava combustíveis alternativos e renováveis com base nos óleos de palma, algodão e amendoim e na década de 1970, a Universidade Federal do Ceará começou a realizar pesquisas sobre fontes alternativas de energia que permitiram a obtenção da primeira patente mundial do biodiesel (Goes et al. 2010).

Em 2003, tiveram início os primeiros estudos concretos para a criação de uma política do biodiesel no Brasil, e em dezembro de 2004, o governo lançou o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) objetivando a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional (MME, 2015).

A mistura de biodiesel ao diesel fóssil teve início em dezembro de 2004 em caráter autorizativo. Em janeiro de 2008, entrou em vigor a mistura legalmente obrigatória de 2% de biodiesel ao diesel fóssil (B2), esse percentual foi ampliado sucessivamente até 5% (B5) em janeiro de 2010 e em 1º de novembro de 2014 passou para 7% (ANP, 2015).

Segundo dados da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis - ANP (2015), o Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo, com uma

produção anual, em 2013, de 2,9 bilhões de litros e uma capacidade instalada, no mesmo ano, para cerca de 7,9 bilhões de litros.

A produção e o uso do biodiesel no Brasil propiciam o desenvolvimento de uma fonte energética sustentável sob os aspectos ambiental, econômico e social e também trazem a perspectiva da redução das importações de óleo diesel, gerando divisas para o país. Além da diminuição da dependência do diesel importado, o biodiesel traz outros efeitos indiretos de sua produção e uso como o incremento a economias locais e regionais tanto na etapa agrícola como na indústria de bens e serviços, somados ainda ao efeito positivo sobre o meio ambiente, por exemplo, na diminuição das principais emissões veiculares em comparação ao diesel derivado do petróleo (ANP, 2015).

Existem dezenas de espécies vegetais no Brasil das quais se podem produzir o biodiesel, tais como mamona (*Ricinus communis*), dendê (palma) (*Elaeis guineensis*), girassol (*Helianthus annuus*), babaçu (*Orrbignya speciosa*), amendoim (*Arachis hypogaea*), pinhão manso (*Jatropha curcas*), soja (*Glycine max*), dentre outras (ANP, 2015). Das matérias primas utilizadas para essa finalidade, em nível nacional, a mais empregada é o óleo de soja (77%), sendo que o óleo de palma e o de algodão contribuem apenas com 0,01% e 0,78%, respectivamente. Na Figura 1.1 é apresentado o perfil das matérias primas utilizadas na produção do biodiesel e na Tabela 1.1 seus percentuais por regiões.

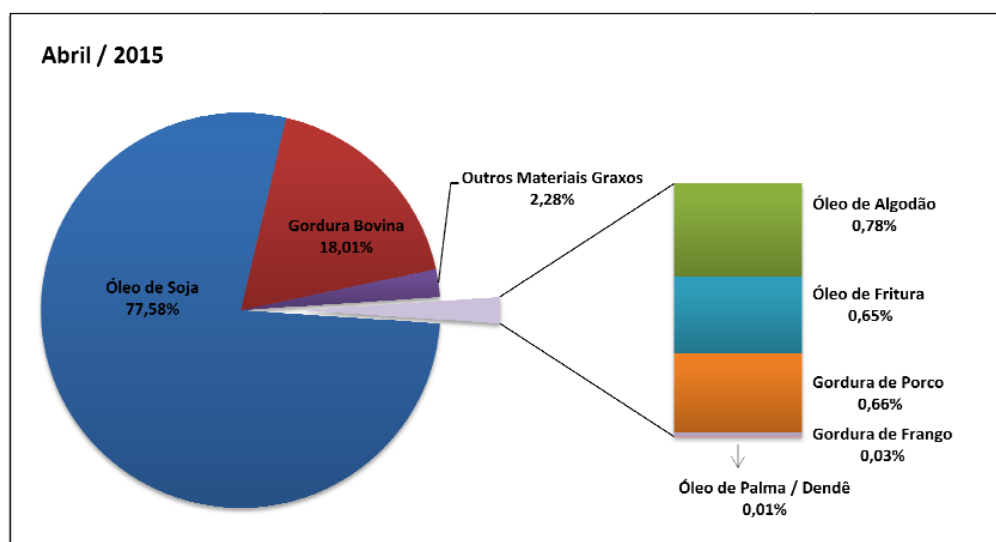


Figura 1.1. Matérias primas utilizadas para a produção do biodiesel (perfil nacional). Extraída de ANP, 2015 – Boletim Mensal do Biodiesel.

Tabela 1.1. Percentuais das matérias primas utilizadas para a produção de biodiesel por região em abril de 2015. Fonte: ANP, 2015– Boletim Mensal do Biodiesel.

Matéria Prima	Região				
	Norte	Nordeste	Centro- Oeste	Sudeste	Sul
Óleo de Soja		73,80%	90,53%	49,28%	75,89%
Gordura Bovina	13,58%	20,31%	7,06%	49,50%	20,33%
Óleo de Algodão		5,76%	0,60%	0,34%	
Outros Materiais Graxos	86,42%		0,87%		1,43%
Óleo de Fritura Usado			0,86%	0,88%	0,51%
Gordura de Porco			0,03%		1,82%
Gordura de Frango			0,05%		0,02%
Óleo de Palma/Dendê		0,13%			

O destaque da soja como principal matéria prima utilizada para a produção do biodiesel se deve ao fato de que essa cultura tem uma cadeia produtiva organizada e está no limite da fronteira tecnológica mundial, sendo o Brasil o segundo maior produtor dessa oleaginosa.

De acordo com Durães (2009), as espécies oleaginosas das quais o Brasil possui o domínio tecnológico, soja, girassol, algodão, amendoim e canola, têm um potencial de rendimento que varia de 500 kg ha⁻¹ a 1500 kg ha⁻¹ de óleo. O pinhão manso e algumas palmeiras, os quais ainda não se possuem o domínio tecnológico, têm um potencial de rendimento de 2000 a 5000 quilos de óleo por hectare. O dendê tem o potencial de rendimento de 4000 quilos de óleo por hectare, entretanto sua produção ocorre em uma área restrita, circunscrita ao Pará, Amazonas e Bahia (Goes et al, 2010).

Por se tratar de um país tropical, com dimensões continentais, o desafio colocado é o do aproveitamento das potencialidades regionais (Figura 1.2). Isso é válido tanto para culturas já tradicionais, como a soja, o amendoim, o girassol, a mamona e o dendê, quanto para novas alternativas, como o pinhão manso, o nabo forrageiro (*Raphanus sativus*), o pequi (*Caryocar brasiliense Camb*), o buriti (*Mauritia flexuosa*), a macaúba (*Acronomia aculeata*) e uma grande variedade de outras oleaginosas a serem exploradas.



Figura 1.2. Culturas oleaginosas utilizadas para produção do biodiesel. Fonte: Biodieselbr, 2015 – Atlas do biodiesel.

As matérias primas e os processos para a produção de biodiesel dependem da região considerada. As diversidades sociais, econômicas e ambientais geram distintas motivações regionais para a sua produção e consumo (Biodieselbr, 2015).

1.1.1 Subprodutos da Produção do Biodiesel

Na produção do biodiesel são gerados resíduos e subprodutos que necessitam de estudos para aproveitamento de forma que toda a cadeia de produção seja sustentável e economicamente

viável. Além disso, a destinação correta dos resíduos é uma forma de diminuir o impacto ambiental, agregar valor e gerar outra fonte de renda para os produtores agrícolas.

Dentre os principais subprodutos dessa produção, encontra-se a glicerina ou glicerol, como subproduto do processo químico, o farelo e a torta das oleaginosas. O farelo é o produto sólido obtido após extração do óleo usando solventes e a torta é o produto sólido obtido após extração por prensagem (Mota & Pestana, 2011; Melo, 2007).

De acordo com Abdalla et al (2008), considerando a relação média torta/óleo por oleaginosa igual a 1,8 aproximadamente, uma vez que varia por processo de extração, variedade, cultura, eficiência de processo, dentre outros, o país apresenta um potencial de produção de tortas e/ou farelos da ordem de 14.746 kg ha⁻¹ ano⁻¹. Estima-se que, para cada tonelada de soja, se extrai aproximadamente 600 kg de farinha desengordurada e cerca de 50 kg de cascas. Portanto os subprodutos devem ser criticamente avaliados, pois podem ser um fator limitante para a viabilidade econômica da produção dos biocombustíveis. Na Tabela 1.2 são apresentadas algumas possibilidades de reaproveitamento dos subprodutos da produção do biodiesel reportadas na literatura.

Tabela 1.2. Reaproveitamento dos subprodutos da produção do biodiesel

Subproduto	Aplicação	Referências
Glicerina	Produção de cosméticos, tintas, adesivos, produtos farmacêuticos e têxteis	Motta et al., 2009
	Ingrediente energético de rações de suínos	Abdalla et al., 2008
Tortas e Farelos	Materiais adsorventes	Nunes, 2009; Nunes et al., 2009
	Nutrição animal	Oliveira et al, 2011; Melo, 2007; Nithiyantham, 2012; Balbinot et al., 2006; Albuquerque et al., 2006; Evangelista et. al, 2007; Domingues et al., 2010; Ezequiel et al., 2006; Costa et al., 2009; Miotto, 2011; Abdalla et al., 2008; Bandeira et al., 2004; Silva et al., 2010; 2012; Andrade et al., 2013; Ananda et al., 2005; Candido et al., 2008; Barnes et al., 2009
	Aduto orgânico	Lima et al., 2011; Silva et al, 2010; 2012; Teixeira et al., 2014

As tortas de oleaginosas que apresentam características tóxicas, como a mamona e o pinhão manso, devem ser submetidas a estudos de detoxicação e de sanidade para utilização como alimentos para animais ou como fertilizantes orgânicos (Oliveira et al, 2011; Melo, 2007; Nithiyantham, 2012). Para criação de animais, a nutrição representa em torno de 60% dos custos totais, sendo o milho e a soja os principais ingredientes utilizados nas rações (Silva et al., 2010). Nesse sentido, o aproveitamento das tortas e farelos representa uma grande economia para os criadores.

A utilização dos subprodutos orgânicos para melhorar o rendimento de culturas agrícolas é uma alternativa tradicional para a eliminação dos resíduos industriais, com vantagens adicionais de evitar impactos ambientais e geração de renda para as indústrias e para os produtores rurais. Os resíduos orgânicos são usados não apenas como fertilizantes, mas também como substrato na horticultura no crescimento de mudas e vegetais. Os resíduos utilizados como fertilizantes orgânicos podem suprir macro e micronutrientes, melhorar as propriedades físicas do solo, imobilizar elementos tóxicos como o alumínio e promover a atividade de microorganismos (Lima et al., 2011).

A maior parte de informações sobre o aproveitamento de tortas de oleaginosas foi encontrada em sites especializados de instituições públicas (ministérios) e de pesquisa (Embrapa). Nos trabalhos publicados em periódicos, o maior enfoque é dado aos estudos de detoxicação de tortas visando à nutrição animal e na utilização como fertilizantes baseada no teor de macronutrientes primários (Nitrogênio, Fósforo e Potássio) presentes nesses insumos. Nesse contexto, mais estudos são necessários para viabilizar a cadeia produtiva do biodiesel, agregando valor e dando um destino ambiental adequado à grande quantidade de subprodutos gerados.

1.2 Fertilizantes Orgânicos

Os solos brasileiros possuem, em sua maioria, limitações de fertilidade natural, tornando-se altamente produtivos quando utilizados com manejo técnico. O manejo técnico inclui, além de outras práticas, o uso intensivo de fertilizantes. Esses são compostos de macronutrientes e micronutrientes, capazes de aumentar as características de fertilidade dos solos para os níveis exigidos pelos cultivares, tornando-os mais produtivos (Nogueira, 2002).

A legislação brasileira para fertilizantes (Brasil, 2004) divide os adubos em duas categorias, os orgânicos e os minerais. Admite-se também os organominerais, o produto resultante da mistura física ou combinação de fertilizantes minerais e orgânicos.

Os adubos orgânicos são fertilizantes constituídos de compostos animais ou vegetais que visam suprir as deficiências de substâncias vitais à sobrevivência dos vegetais. Eles são aplicados na agricultura com o intuito de aumentar a produção, sendo de ação mais lenta que os adubos minerais, visto que passam por transformações maiores (mineralização), a fim de liberarem os nutrientes absorvidos pelas plantas. Os fertilizantes orgânicos promovem o desenvolvimento da flora microbiana e por consequência melhoram as condições físicas do solo (porosidade, aeração, capacidade de retenção de água) e físico-químicas (aumento do pH, capacidade de retenção de cátions). Os fertilizantes minerais são produtos de natureza fundamentalmente mineral, natural ou sintético, obtido por processo físico, químico ou físico-químico, fornecedor de um ou mais nutrientes para as plantas.

O Decreto N° 4.954, de 14 de janeiro de 2004, através de seu Anexo, Art.2°, define nutriente como elemento essencial ou benéfico para o crescimento e produção dos vegetais, assim subdividido (Brasil, 2004):

- a) macronutrientes primários: Nitrogênio, Fósforo, Potássio, expressos nas formas de Nitrogênio, Pentóxido de Fósforo (P_2O_5) e Óxido de Potássio (K_2O);
- b) macronutrientes secundários: Cálcio, Magnésio e Enxofre, expressos nas formas de Cálcio ou Óxido de Cálcio, Magnésio ou Óxido de Magnésio e Enxofre; e
- c) micronutrientes: Boro, Cloro, Cobre, Ferro, Manganês, Molibdênio, Zinco, Cobalto, Silício e outros elementos que a pesquisa científica vier a definir, expressos nas suas formas elementares.

De acordo com Nicollela et al. (2005), o consumo brasileiro de fertilizantes aumentou de 958 mil toneladas em 1970 para 7 milhões de toneladas em 2002. O mercado de fertilizantes organominerais cresceu a uma taxa média de 10% ao ano na última década. Estima-se que em 2009 foram produzidos e comercializados cerca de 3,5 milhões de toneladas de fertilizantes organominerais, a partir de matérias primas como esterco, turfa, resíduos da indústria sucroalcooleira, tortas diversas e resíduos agroindustriais (Benites et al., 2010).

O Brasil é o 4º maior mercado consumidor de fertilizantes, precedido pela China, Estados Unidos e Índia (Neves et al., 2002). Nos últimos anos, o crescimento da produção agrícola vem contribuindo para aumentar a demanda por fertilizantes proporcionando um aumento das importações, as quais, em 2007, representaram 72% das necessidades internas (ABMR, 2012). Dados da Assessoria de Gestão Estratégica (AGE) do MAPA, estimam que a demanda brasileira de fertilizantes seja de 30,6 milhões de toneladas em 2016 e, se não houver incremento na capacidade nacional de produção, cerca de 70% da demanda interna de fertilizantes será mantida com importações. Deste modo, o país torna-se cada vez mais dependente de importações, o que, em um cenário de aquecimento da demanda mundial, tem levado a sucessivos aumentos de preço, prejudicando a competitividade das principais culturas do agronegócio. Uma alternativa para suprir essa demanda é a utilização de insumos orgânicos que possam ser usados como fonte de alguns nutrientes.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) reconhece, dentre outros materiais vegetais, as tortas vegetais como fertilizantes orgânicos e estabelece requisitos como teores mínimos de nutrientes (Tabela 1.3) e limites máximos de elementos tóxicos (Tabela 1.4) admitidos em fertilizantes orgânicos (Brasil, 2009, 2006).

Tabela 1.3. Teores mínimos de nutrientes para fertilizantes orgânicos sólidos (Brasil, 2009).

Nutriente	Teor Total Mínimo (% m m⁻¹)
Cálcio (Ca)	1
Magnésio (Mg)	1
Enxofre (S)	1
Boro (B)	0,03
Cloro (Cl)	0,1
Cobalto (Co)	0,005
Cobre (Cu)	0,05
Ferro (Fe)	0,2
Manganês (Mn)	0,05
Molibdênio (Mo)	0,005
Níquel (Ni)	0,005
Silício (Si)	1
Zinco (Zn)	0,1

Tabela 1.4. Limites máximos de contaminantes admitidos em fertilizantes orgânicos (Brasil, 2006).

Contaminantes	Valor Máximo Admitido (mg kg ⁻¹)
Arsênio (As)	20
Cádmio (Cd)	3
Chumbo (Pb)	150
Cromo (Cr)	200
Mercurio (Hg)	1
Níquel (Ni)	70
Selênio (Se)	80

1.2.1 Tortas de oleaginosas Utilizadas como Fertilizantes Orgânicos

O uso de tortas vegetais provenientes da cadeia produtiva do biodiesel para produção de fertilizantes é uma alternativa atraente tanto no aspecto econômico como ambiental. Seu uso eficiente como fertilizante na agricultura depende do conhecimento de sua composição química, quando se visa à determinação correta de dose a ser aplicada e à avaliação do potencial desses materiais em suprir nutrientes e de contaminar o ambiente.

Melo e colaboradores (2010) destacaram que a torta de mamona é uma grande fonte de nitrogênio, fósforo e potássio, e que além de possuir a capacidade de recuperar áreas degradadas, também serve para o controle de nematoides do solo. Estima-se que um hectare pode gerar 1,2 toneladas de torta para cada tonelada de óleo produzido que corresponde em média a 55% da massa das sementes, dependendo do teor de óleo da semente e do processo industrial de extração do óleo (Silva et. al., 2010).

Chies e colaboradores (2012) ressaltaram que a torta de pinhão manso é um excelente fertilizante, com concentrações consideráveis de nutrientes como nitrogênio, fósforo, e potássio. No Paraná, os produtores da oleaginosa já estão usando a torta como fertilizante em cafezais, pomares de laranja e nas próprias culturas de pinhão manso, obtendo resultados favoráveis.

Alguns estudos demonstraram a rapidez com que a torta de mamona se mineraliza e conseqüentemente disponibiliza seus nutrientes. Segundo Jones (1947) citado por Severino (2005), entre 75 e 100% do nitrogênio da torta de mamona foi nitrificado em três meses.

Severino (2004) demonstrou que a velocidade de mineralização da torta de mamona medida pela respiração microbiana, é cerca de seis vezes mais rápida que a de esterco bovino e quatorze vezes maior que a do bagaço de cana, o que permite que a liberação de nutrientes seja mais rápida que nesses outros materiais, mas também não seja tão rápida quanto à dos fertilizantes inorgânicos. Essa rápida decomposição ocorre devido aos altos teores de nitrogênio e fósforo presentes na torta.

Araujo et al. (2007) avaliaram a melhor combinação entre determinadas proporções de torta e casca de mamona para a obtenção de um adubo orgânico com elevado teor nutricional, principalmente dos macronutrientes N, P e K, para o melhor aproveitamento racional e econômico desses subprodutos na agricultura. O adubo orgânico nove (10% casca – 90% torta) foi o que apresentou maiores quantidades percentuais de nitrogênio e fósforo, sendo o mais indicado na adubação para suprir as necessidades desses nutrientes. O adubo orgânico um (90% de casca – 10% torta) demonstrou maiores percentuais de potássio e assim deve ser o mais indicado na adubação para suprir as necessidades para esse nutriente. Contudo, se a adubação visa atender tanto as exigências em nitrogênio, fósforo e potássio, o adubo orgânico cinco (50% casca – 50% torta) apresenta quantidades significativas para os três macronutrientes, além de baixa relação carbono/nitrogênio - C/N.

Oliveira Junior et al. (2007) determinaram os nutrientes presentes na casca e torta de pinhão manso e concluíram que a casca do pinhão manso possui altos teores de potássio ($60,2 \text{ g kg}^{-1}$) e a torta possui teores consideráveis de nitrogênio ($34,6 \text{ g kg}^{-1}$) sendo assim necessária a reposição destes nutrientes na área cultivada.

Segundo Brasil (1985) citado por Oliveira Junior et al. (2007), a casca representa em torno de 42% da composição do fruto do pinhão manso. Considerando uma produção de frutos de $10.000 \text{ kg ha}^{-1}$ tem-se uma extração de aproximadamente 250 kg de potássio por hectare. O restante do fruto (58%) é constituído pela semente, supondo que após a extração do óleo, uma quantidade de 3.700 kg de torta seja formada, assim 128 kg de nitrogênio por hectare seriam extraídos da área de cultivo, aproximadamente. Com isso fica claro que tanto as cascas como a torta, devem retornar para a lavoura servindo de adubo orgânico para a cultura, havendo assim a reciclagem dos nutrientes, fornecimento de matéria orgânica e ainda proporcionando uma economia em fertilizantes.

Souza et al. (2009) realizaram a caracterização química de sementes e tortas de pinhão manso, nabo forrageiro e crambe. As amostras foram calcinadas e as cinzas ressuspensas em HCl 2 mol L⁻¹ e a quantificação feita por espectrômetro de absorção atômica com chama e gerador de vapor. Os grãos e tortas foram avaliados quanto à composição bromatológica e ao perfil de minerais. De acordo com os autores as tortas são ricas em K, Mg, Ca, Na, Mn, Fe, Zn e B. As quantidades verificadas de Al, Ba, B, Cu e Ni foram baixas. Elementos como Pb, Cd, Cr não foram quantificados por estarem abaixo do limite de detecção do método empregado.

A vantagem do uso de adubo orgânico em relação à aplicação de fertilizantes minerais é a liberação gradual dos nutrientes à medida que são demandados para o crescimento da planta. Se os nutrientes forem imediatamente disponibilizados no solo, como ocorre com os fertilizantes inorgânicos, podem ser perdidos por volatilização (principalmente o nitrogênio), fixação (fósforo) ou lixiviação (principalmente o potássio). Por outro lado, a mineralização de alguns materiais orgânicos pode ser excessivamente lenta, como ocorre com o bagaço de cana, de forma que os nutrientes não são disponibilizados em quantidade suficiente e o crescimento da planta é limitado por carência nutricional (Severino, 2004).

1.3 Referências

Abdalla, A.L.; Filho, J.C.S.; Godoi, A.R.; Carmo, C.A.; Eduardo, J.L.P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.39, p.260-258, 2008.

ABMR, Associação Brasileira de Marketing Rural & Agronegócio. Disponível em: http://www.abmr.com.br/marketing/artigos/menos_impostos_fertilizantes_abmra.pdf. Acessado em: 14/11/2012.

Albuquerque, N.I. Emprego do babaçu (*Orbignya phalerata*) como fonte energética para catetos (Tayassu tajacu). Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2006. 80p. **Tese** (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2006.

Anandan, A.; Anil K. G.K.; Gosh, J.; Ramachandra, K.S. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake. **Animal Feed Science and Technology**, v. 120, p. 159-168, 2005.

Andrade, P. A.; Nascentes, C. C.; Costa, L. M. Caracterização química de resíduos de biomassa da cadeia produtiva de biodiesel no Brasil. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v.15, p. 225-231, 2013.

ANP - Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustível. Boletim Mensal de Biodiesel. Disponível em <http://www.anp.gov.br>. Acesso em 15/06/2015.

Araújo, J. C.; Fraga, A. C.; Neto, P. C.; Barbosa, E. A. A. Avaliação dos teores de N, P e K de um adubo orgânico obtido por diferentes combinações de torta e casca de mamona. In: **4º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel**, Varginha, Minas Gerais, 2007.

Balbinot, N. S.; Schneider, R. C. S.; Rodriguez, A. A. L.; Kapell, F. I.; Prediger, M. H.; Lara, L. R. S. Aproveitamento dos resíduos da produção de oleaginosas e da extração de óleo. Montevideo: AIDIS, 2006. Disponível em: http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/uruguay30/BR05423_Balbinot.pdf. Acesso em 19/11/2012.

Bandeira, D. A.; Cartaxo, W.V; Severino, L., S.; Beltrão, N. E. M. Resíduo industrial da mamona como fonte alternativa na alimentação animal. In: **I Congresso brasileiro de mamona: Energia e Sustentabilidade**. Campina Grande/PB, 2004.

Barnes, D. J.; Baldwin, B. S.; Braasch, D. A. Degradation of ricin in castor seed meal by temperature and chemical treatment. **Industrial crops and products**, v. 29, p. 509–515, 2009.

Benites, V. M; Correa, J.C.; Menezes, J. F. S. e Polidoro, J.S. Mercado de fertilizantes organominerais no Brasil. **Trabalho publicado na FertBio**, setembro de 2010.

Biodieselbr.com. Disponível em <http://www.biodieselbr.com/biodiesel/brasil/biodiesel-brasil.htm>. Acesso em 15/06/ 2015.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº25 de 28 de julho de 2009.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº27 de 06 de junho de 2006.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº24 de 20 de junho de 2007.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº28 de 27 de julho de 2007.

Cândido, M. J. D.; Bomfim, M. A. D.; Severino, L. S.; Oliveira, S. Z. R. Utilização de co-produtos da mamona na alimentação animal. In: **II Congresso brasileiro de mamona: Energia e Ricinoquímica**, Salvador, 2008.

Chies V. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa. Uso de tortas de pinhão-manso e mamona é discutido em simpósio. Disponível em: <http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2012/julho/1a-semana/uso-de-tortas-de-pinhao-manso-e-mamona-e-discutido-em-simposio/>. Acesso em 08/11/2012.

Costa, A.D.; Junior, L.B.J.; Ferreira, G.D.G. Santos, A.F.N. Avaliação nutricional da torta de dendê para suplementação de ruminantes na Amazônia oriental. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**, v.4, n.8, p.83-101, 2009.

Domingues, A.R.; Silva, L.D.F.; Ribeiro, E.L.E.; Castro, V.S.; Barbosa, M.A.A.F.; Mori, R.M.; Vieira, M.T.L.; Silva, J.A.O. Consumo, parâmetros ruminais e concentração de uréia plasmática em novilhos alimentados com diferentes níveis de torta de girassol em substituição ao farelo de algodão. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, n.4, p.1059-1070, 2010.

Duraes, F., O. M. Agroenergia para o Biodiesel. Revista Política Agrícola, n.1, jan/fev 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA/SPA Brasília. DF. Pag. 118.

Evangelista, A.R.; Lopes, J.; Abreu, J.G.; Peron, A. J.; Fraga, A. C.; Neto, P. C. Avaliação da composição química de tortas de amendoim e mamona obtidos por extração com etanol. In: Congresso da rede brasileira de tecnologia de biodiesel, 2007, Brasília. Brasília: ABIPTI, 2007. Disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2007/producao/7.pdf>. Acesso em 19/11/2012.

Ezequiel, J.M.B.; Silva, O.G.C. Galati, R.L.; Watanabe, P.H.; Biagioli, B.; Faturi, C. Desempenho de novilhos Nelore alimentados com 26 cascas de soja ou farelo de gérmen de milho em substituição parcial ao milho moído. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.569-575, 2006.

Goes, T.; Araújo, M.; Marra, R. Biodiesel e sua sustentabilidade. Disponível em: http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2010/Trabalho_biodiesel_11_de_janeiro_de_2010-versao_final.pdf/view. Acesso em 04/11/2012.

Lima, R. L. S.; Severino, L. S.; Sampaio, L. R.; Sofiatt, V.; Gomes, J. A; Beltrão, N. E. M. Blends of castor meal and castor husks form optimized use as organic fertilizer. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 364-368, 2011.

MME - Ministério de Minas e Energia – Programa Nacional de produção e uso do biodiesel. Disponível em: http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel/galerias/arquivos/biodiesel/cartilha_biodiesel_portugues.pdf. Acesso em 15/06/2015.

Melo, W. L. B. Biodiesel - uma reflexão tecnológica. Agronline 01/02/2007. Disponível em: <http://www.agronline.com.br/artigos/artigo.php?id=360&pg=1&n=2>. Acesso em 08/11/2012.

Miotto, F.R.C. Farelo do mesocarpo de babaçu na produção de bovinos de corte. **Tese** (Doutorado em Ciência Animal), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2011.

Mota, C.J. et al. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 32, n.3, p. 639 – 648, 2009.

Mota, C. J. A.; Pestana, C. F. M. Coprodutos da Produção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, v.3, n. 5, p.416-425, 2011.

Neves, E. M.; Rodrigues, L.; Dayoub, M.; Dragones, D. S. Fertilizantes no Plano Real: estratégias empresariais e demanda. Piracicaba, 2002. 23p. **Relatório de Pesquisa**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

Nicolella, A. C.; Dragone, D. S.; Bacha, C. J. C. Determinantes da Demanda de Fertilizantes no Brasil no período de 1970 a 2002. **RER**, Rio de Janeiro, n. 43, v.1, p. 81-100, 2005.

Nithiyantham, S.; Siddhuraju P.; Francis, G. Potential of *Jatropha curcas* as a Biofuel, Animal Feed and Health Products. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, n.6, p.961 – 972, 2012.

Nogueira, L.A.H. e Pikman, B., Biodiesel: Novas Perspectivas de Sustentabilidade. Agência Nacional do Petróleo, **Conjuntura & Informação**, n. 19, p.1-4, 2002.

Nunes, D. L. Preparação de Carvão Ativado a partir de torta prensada de *Raphanus sativus L.* e utilização para clarificação de soluções. **Dissertação** (Mestre em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2009.

Nunes, A. A; Franca, A. S.; Oliveira, L. S. Activated carbons from waste biomass: An alternative use for biodiesel production solid residues. **Bioresource Technology**, v. 100, n.5, p. 1786-1792, 2009.

Oliveira, A. S.; Oliveira, M. R. C.; Souza, J. G.; Gabriel, J. A.; Alessi, K. C., Souza, M. C.; Schwambach, T. I. Perspectiva da Utilização dos Co-produtos do Biodiesel na Produção de

Bovinos de Corte. Amazônia Nutrição Animal. Artigo Técnico 15/08/2011 Disponível em: <http://www.amazoniaphos.com.br/TNX/imprime.php?cid=564&sid=44>. Acesso em 08/11/2012.

Oliveira Júnior, J. B.; Marcelo, D. N.; Fraga, A. C.; Neto, P. C. Determinação dos nutrientes presentes na casca e torta do pinhão manso. In: 4º **Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel**, Varginha, Minas Gerais, 2007.

Severino, L.S. Costa, F.X.; Beltrão, N.E.M.; Lucena, A.M.A.; Guimarães, M.M.B. Mineralização da torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana. **Revista de Biologia e Ciências da Terra** v. 5, n. 1, 2004.

Severino, L. S. O que sabemos sobre a torta de mamona. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 31p. (**Documentos, 134**).

Silva, B. A.; Stephan, M. P.; Koblitz, M. G. B.; Ascheri, J. L. R. Influência da concentração de NaCl e pH na extração de ricina em torta de mamona (*Ricinus communis* L.) e sua caracterização por eletroforese. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.7, p.1320-1326, 2012.

Silva, M. S.; Macedo, L.C., Santos, J. A. B.; Moreira, J. J. S.; Narain, N.; Silva, G. F. Aproveitamento de co-produtos da cadeia produtiva do biodiesel de mamona. **Exacta**, São Paulo, v. 8, n. 3, p. 279-288, 2010.

Souza, A. V.; Fávaro, S. P.; Ítavo, L. C. V.; Roscoe, R. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-manso, nabo-forrageiro e crambe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 44, n.10, p. 1328 -1335, 2009.

Teixeira, L. S., Vieira, H. P., Windmüller, C. C., Nascentes, C.C. Fast determination of trace elements in organic fertilizers using a cup-horn reactor for ultrasound-assisted extraction and fast sequential flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v.119, p. 232 - 239, 2014.

CAPÍTULO 2

Determinação elementar de constituintes inorgânicos em tortas de oleaginosas por ICP OES após digestão ácida assistida por radiação micro-ondas

Capítulo 2 – Determinação Elementar de Constituintes Inorgânicos em Tortas de Oleaginosas por ICP OES após Digestão Ácida Assistida por Radiação Micro-Ondas

2.1 Introdução

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) é uma técnica multielementar bem estabelecida, utilizada na determinação da concentração de uma série de elementos em diferentes matrizes (Froes et al., 2009; Naozuka et al., 2011; Chaves et al., 2010; Castro et al., 2009). O plasma possui energia suficiente para promover a excitação da maioria dos elementos químicos, proporcionando alta sensibilidade com ampla faixa linear de trabalho e estabilidade temporal satisfatória. Os limites de quantificação normalmente obtidos são bons, variando de $\mu\text{g L}^{-1}$ a mg L^{-1} , o que permite a utilização dessa técnica para diferentes aplicações (Petry, 2005). Contudo, a introdução de amostras deve ser realizada sob a forma de soluções representativas, exigindo uma etapa de tratamento que engloba, dependendo do tipo de amostra, desde a simples diluição até a completa destruição da matriz.

No final da década de 1970 a utilização da radiação micro-ondas (MW) foi proposta como uma estratégia analítica para a decomposição de amostras de tecidos vegetais e animais em frascos abertos (Krug, 2008). Em meados da década de 1990, o número de aplicações envolvendo o uso de radiação micro-ondas para o preparo de amostra cresceu rapidamente. Desde então, as aplicações da radiação micro-ondas nos diversos ramos da química têm crescido exponencialmente, sendo empregada para as mais diferentes finalidades (Krug, 2008; Oliveira, 2003; Agazzi & Pirola, 2000; Smith & Arsenault, 1996). Os tipos comerciais de fornos de micro-ondas mais utilizados são: com cavidade, que trabalha a alta pressão e os que apresentam radiação focalizada, que trabalham a pressões atmosféricas (Oliveira, 2003).

Entre as vantagens do uso da radiação micro-ondas em comparação com procedimentos de aquecimento convencional, se destacam: redução no volume de reagentes, aumento na frequência analítica, aumento da eficiência de decomposição e menor possibilidade de contaminação e perda de analitos por volatilização (Oliveira, 2003; Agazzi & Pirola, 2000). Além disso, as elevadas temperaturas e pressões podem proporcionar a total digestão da matriz, melhorando a qualidade dos digeridos (Aydin, 2008).

Usualmente, na decomposição de matrizes orgânicas em forno de micro-ondas com cavidade, emprega-se o ácido nítrico como agente oxidante da matéria orgânica e, em algumas situações, ácido nítrico e peróxido de hidrogênio como oxidante auxiliar (Cindric et al., 2012, 2011; Bizzi et al., 2011; Chaves et al., 2010; Naozuka et al., 2011; Castro et al., 2009; Agazzi & Pirola, 2000; Zhou et al., 1996; Hoening et al., 1997).

A alta pressão gerada dentro do frasco reacional de decomposição, quando aquecido por radiação micro-ondas, aumenta o ponto de ebulição do ácido nítrico o que resulta no aumento do seu potencial de oxidação e na velocidade de reação da mistura ácido-amostra, conseqüentemente, aumenta a eficiência de dissolução das matrizes orgânicas. Em condições clássicas de aquecimento, a matéria orgânica poderia ser parcialmente digerida sendo necessária a utilização de ácido perclórico para o aumento da eficiência de digestão (Smith & Arsenault, 1996).

2.1.1 Aplicações da Decomposição Assistida por Radiação Micro-Ondas em Matrizes Vegetais

Diversos trabalhos descritos na literatura empregam a radiação micro-ondas para a decomposição de materiais vegetais e alguns trabalhos são apresentados na Tabela 2.1.

Os procedimentos utilizando radiação micro-ondas têm sido amplamente empregados e os resultados obtidos em comparação com os procedimentos por via seca e úmida para a decomposição de diversas amostras têm demonstrado que os primeiros são mais eficientes (Cindric et. al., 2012, 2011; Aydin, 2008). Esses procedimentos aliados à técnica ICP OES permitem a quantificação de constituintes inorgânicos de uma forma relativamente rápida.

Tabela 2.1. Decomposição assistida por radiação micro-ondas de materiais vegetais

Matriz	Analitos/Determinação	Preparo da Amostra	Programa de Aquecimento	Observações dos autores	Referência
Sementes de algodão, girassol, mamona, nabo forrageiro, pinhão manso e soja.	Ca, K, P, Mg e Na/ICP OES Al, Mn, Fe, Co, Cu, Ba, Pb, Ni, Zn, Cd, Sr, Ga, Mo e Rb/ICP MS	Digestão MW: 0,5 g de amostra + 3,0 mL HNO ₃ concentrado + 1,5 mL de H ₂ O ₂	33 min variando a potência entre 0 – 500 W	O programa de aquecimento foi aplicado duas vezes como forma de garantir a total decomposição das matrizes.	Chaves et al., 2010
Castanha de sapucaia, babaçu, caju, polpas de coco e cupuaçu.	Al, B, Ba, Ca, Cl, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S, Si, Sr, Zn/ICP OES	Digestão MW: 150 – 250 mg de amostra + 2 mL HNO ₃ + 1 mL de H ₂ O ₂ + 3 ml de H ₂ O	Três etapas (temp/°C; rampa aquecimento/min; tempo espera/min): 1 ^a (140; 5; 1), 2 ^a (180; 4; 5) e 3 ^a (220, 4; 10)	Baixos percentuais de carbono residual nos digeridos devidos a eficiente combinação do sistema de digestão em vaso fechado e a mistura de oxidantes diluídos.	Naozuka et al., 2011
Sementes de Café	Ba, Cu e P/ICP OES	Digestão MW: 250 mg de amostra 7 mL HNO ₃ (14,0; 10,5; 7,0; 3,5; 1,7 e 1,0 M) + 1,0 mL H ₂ O ₂	8 min de aquecimento até 120 °C + 25 min a 210 °C	Ausência de resíduos sólidos após a decomposição da amostra quando soluções de HNO ₃ de concentração acima de 3,5 M foram empregadas.	Castro et al., 2009
Tortas de café, girassol, mamona, nabo forrageiro e pinhão manso.	Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo e Zn/ICP OES	Planejamento fatorial 2 ³ completo com ponto central avaliando os parâmetros temperatura do MW (180; 195 e 210 °C), mistura ácida (8,0 mL de HNO ₃ concentrado; 7,0 mL HNO ₃ concentrado mais 1,0 mL de H ₂ O ₂ e 8,0 mL de HNO ₃ 50% v v ⁻¹) e tempo de aquecimento (20; 25 e 30 minutos). Utilizou-se 200 mg de amostras.		As variáveis e as interações não foram significativas a um nível de 95% de confiança. Assim o autor optou por trabalhar com ácido diluído, menores tempos de digestão e temperatura.	Andrade, 2012
Resíduos orgânicos, fertilizantes e torta de mamona.	Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn/ FAAS	Digestão MW: 250 mg de amostra + 4,5 mL HNO ₃ concentrado + 2,0 mL H ₂ O ₂ + 1,5 mL HCl	10 min aquecimento até 200 °C e 15 min a 200 °C	As recuperações e a precisão do método variaram de 84 a 98% e de 2 a 5%, respectivamente.	Teixeira et al., 2014

2.1.2 Disponibilidade de Nutrientes em Fertilizantes Orgânicos

Em fertilizantes, além da determinação do teor total dos constituintes inorgânicos é importante se avaliar o teor disponível desses elementos, ou seja, o quanto está disponível para as plantas. Nesse contexto, o MAPA estabeleceu por meio da instrução normativa SDA nº28 de 27 de julho de 2007 (Brasil, 2007) que os fertilizantes minerais contendo micronutrientes devem apresentar em sua composição os teores de micronutrientes metálicos solúveis em ácido cítrico (AC) e citrato neutro de amônio (CNA). Contudo, até o presente momento, para fertilizantes orgânicos a mesma regulamenta apenas a determinação do teor total de micronutrientes.

Na determinação do teor total, o ataque com ácidos minerais fortes e altas temperaturas possibilitam a solubilização de fontes que dificilmente teriam alguma solubilização mais efetiva no solo. A princípio, toda matéria orgânica pode ser mineralizada quando aplicada no solo e durante esse processo, os micronutrientes vão sendo liberados para as plantas. Mas o tempo necessário para que o processo de mineralização ocorra depende muito das condições do solo e do tipo de fertilizante orgânico.

Desta forma é interessante avaliar também a disponibilidade de nutrientes e metais tóxicos oriundos de adubos orgânicos, para se ter uma idéia da quantidade desses elementos que estarão prontamente disponíveis para a absorção pelas plantas. Os métodos analíticos para o controle de qualidade de fertilizantes orgânicos estão passando por uma revisão e talvez, num futuro próximo, exista alguma indicação em relação à disponibilidade também para os fertilizantes orgânicos e organominerais.

2.1.3 Extratores Empregados na Avaliação da Disponibilidade de Nutrientes e Metais Tóxicos no Solo

Vários métodos de extração têm sido propostos, envolvendo diferentes tipos de soluções (Vale & Alcarde, 1999). Soluções neutras, com força iônica similar à do solo, como $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de CaCl_2 são frequentemente utilizadas na previsão de teores biodisponíveis de metais tóxicos, assim como soluções diluídas de ácidos fortes, como HCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e Mehlich 1. Agentes quelantes como o ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA), ou soluções ácidas e quelantes como o Mehlich-3 também são utilizados (Pires et.al, 2004).

Alcarde & Ponchio (1979) citado por Marchi et al. (2009), demonstraram com base na constante de estabilidade do ânion citrato, a habilidade que o CNA, em pH 7, e que o AC, em condições de acidez, têm em formar complexos com cátions presentes e passíveis de serem disponíveis, entre eles o Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na e Zn.

Os agentes quelantes mostraram-se também promissores para avaliar a disponibilidade de micronutrientes catiônicos no solo. Lindsay e Norvell (1978) citado por Vale e Alcarde (1999), utilizaram o DTPA como extrator de Cu, Fe, Mn e Zn dos solos. Escolheram a solução de DTPA a pH 7,3 por ser a que apresentava a mais favorável combinação de constantes de estabilidade para complexações simultâneas dos micronutrientes metálicos, além de mostrar maior habilidade para complexar Cu, Fe, Mn e Zn, em competição com o Ca e Mg. Paim e colaboradores (2006) ressaltam que o extrator DTPA, rotineiramente utilizado nas análises das disponibilidades de Cu, Zn, Fe e Mn para as plantas em solos agrícolas, foi eficiente na extração de metais tóxicos em solo contaminado.

Vale & Alcarde (1999) realizaram trabalho de caracterização da solubilidade e a disponibilidade dos micronutrientes em trinta fertilizantes comerciais, por meio de cinco extratores: água, soluções de AC a 2% m v⁻¹, CNA na diluição de 1 + 9, DTPA e EDTA a 0,005 mol L⁻¹. De acordo com os autores, o ácido cítrico a 2% m v⁻¹ mostrou-se promissor na caracterização da disponibilidade de Cu, Mn e Zn para as plantas.

Neste trabalho, soluções extratoras de AC, CNA e DTPA foram selecionadas para avaliação da disponibilidade de nutrientes e contaminantes nas tortas de oleaginosas.

2.2 Objetivos

Geral

O objetivo desta etapa do trabalho é a determinação do teor total e disponível dos constituintes inorgânicos em tortas de oleaginosas por ICP OES, após digestão ácida assistida por radiação micro-ondas em forno com cavidade e extração com AC, CNA e DTPA, respectivamente.

Específicos

Avaliar a eficiência da digestão assistida por radiação micro-ondas das tortas de oleaginosas empregando ácido nítrico concentrado e diluído.

Determinar o teor total dos analitos Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn nos digeridos de tortas de oleaginosas por ICP OES.

Avaliar o potencial das tortas de oleaginosas para uso como fertilizantes orgânicos de acordo com os requisitos estabelecidos pelo MAPA, quanto aos teores mínimos de nutrientes e os limites máximos permitidos para elementos tóxicos.

2.3 Parte Experimental

2.3.1 Amostras e Materiais de Referência Certificado (CRM)

As tortas de pinhão manso, girassol, nabo forrageiro, tremoço, mamona, colza e pequi, fornecidas pela Universidade Federal de Lavras – UFLA, e a torta de palma fornecida pela Universidade Federal do Pará – UFPA foram utilizadas neste estudo.

Devido à impossibilidade de se obter uma matriz branca ou um material certificado de referência de tortas de oleaginosas, para avaliação do desempenho do método, foram utilizados materiais de referência certificados (CRM) de origem vegetal do *National Institute of Standards and Technology* (NIST, EUA) CRM 1547 – folhas de pessego e CRM 1570a – folhas de espinafre.

2.3.2 Reagentes e Soluções

Todas as vidrarias, frascos e ponteiros utilizados foram previamente descontaminados em banhos contendo HNO_3 10% v v⁻¹ por 24 horas.

Os seguintes reagentes foram utilizados: água tipo I obtida em sistema Milli-Q[®] (18 Ω cm, Millipore, EUA), HNO_3 65% m m⁻¹ (Merck, Alemanha), H_2O_2 30% v v⁻¹ (Synth, LabSynth, São Paulo), NH_4OH (Vetec, Rio de Janeiro), trietanolamina (Merck[®], Alemanha), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Vetec, Rio de Janeiro), ácido cítrico monohidratado (Merck[®], Alemanha), DTPA (Sigma Aldrich, EUA). As curvas analíticas foram preparadas a partir de diluições de solução estoque 1000 mg L⁻¹ dos elementos Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn (Tritisol[®], Merck[®], Alemanha; Sigma Aldrich, EUA).

As soluções empregadas na etapa de extração em bloco digestor foram preparadas de acordo com a descrição abaixo:

Solução de ácido cítrico 20 g L⁻¹

Pesou-se cerca de 20 g de ácido cítrico cristalizado monohidratado ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$), dissolveu em água tipo I, transferiu para balão volumétrico de 1,00 L e completou-se o volume, de acordo com procedimento recomendando pelo MAPA (Brasil, 2007).

Solução de citrato neutro de amônio + água

Dissolveu-se cerca de 370 g de ácido cítrico monohidratado cristalizado em 1500 mL de água tipo I e adicionou-se 345 mL de hidróxido de amônio. Após resfriamento, mediu-se e ajustou-se o pH para 7,00 com a adição de gotas NH_4OH (29% v v⁻¹ de NH_3). Transferiu-se 500 mL dessa solução para balão volumétrico de 1,00 L e completou-se o volume com água tipo I, de acordo com procedimento recomendando pelo MAPA (Brasil, 2007).

Solução de DTPA 0,005 mol L⁻¹

Dissolveu-se cerca de 1,9 g de DTPA em 200 mL de água tipo I, adicionou-se 13,30 mL de trietanolamina e em seguida cerca de 1,5 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Ajustou-se o pH para 7,3 pela adição de gotas de HCl concentrado. Transferiu para balão volumétrico de 1,00 L e completou o volume, de acordo com procedimento recomendado por Vale & Alcarde (1999).

2.3.3 Equipamentos e Acessórios

A secagem das amostras foi realizada em estufa com circulação e renovação de ar (Tecnal, modelo TE – 394/L SP, Brasil) ou em estufa de circulação forçada (Fanem, São Paulo, Brasil). A moagem foi feita em moinho criogênico Spex 6800 Freezer Mill (Spex, EUA) e a pesagem em balança analítica modelo AX 200 (SHIMADZU do Brasil comércio LDTA, São Paulo, Brasil) com precisão de 0,0001 g. A análise granulométrica foi realizada em analisador de tamanho de partículas CILAS modelo 1190 (CILAS, França) com faixa granulométrica entre 0,2 a 500 μm . As determinações elementares de C e N foram realizadas em um equipamento de CHNSO modelo 2400 (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Shelton, CT, USA).

Os procedimentos de digestão assistida por radiação micro-ondas foram realizados em um forno com cavidade modelo ETHOS 1 - Advanced Microwave Digestion System (Milestone, Sorisole, Itália). O sistema possui sensores de pressão e temperatura e um rotor com capacidade para 10 frascos de perfluoralcóxi (PFA). A caracterização do resíduo de digestão da torta de palma foi feita com espectrômetro de fluorescência dispersiva de raios X modelo EDX-720 (SHIMADZU do Brasil LTDA, São Paulo, Brasil). Os procedimentos de extração foram realizados em bloco digestor com capacidade para 40 tubos de 100 mL (Quimis, São Paulo, Brasil). Um pHmetro modelo MB-10 (Marte, São Paulo, Brasil) foi utilizado para ajuste de pH das soluções extratoras.

A quantificação dos analitos nos digeridos e extratos foi feita com um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) modelo Optima 7300 DV (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Shelton, CT, USA) com configuração axial e radial, equipado com uma fonte de radiofrequência de 40 MHz. Utilizou-se argônio gasoso para a realização das medidas. O sistema de introdução de amostras é composto por nebulizador do tipo GemCone®, câmara ciclônica de quartzo e injetor de alumina 2 mm de diâmetro interno. Os parâmetros instrumentais adotados encontram-se na Tabela 2.2. Os comprimentos de ondas e a configuração radial ou axial foram selecionados de acordo com avaliação preliminar do sinal analítico dos analitos em solução multielementar de digerido de torta de pequi. A potência de radiofrequência, vazão do gás de nebulização e vazão da amostra foram selecionadas a partir de trabalhos da literatura e da experiência do grupo de pesquisa (Castro et al., 2009; Naozuka et al., 2011; Andrade, 2012; Froes et al., 2009).

Tabela 2.2 – Parâmetros instrumentais empregados para determinação de Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras digeridas e extratos de tortas de palma, pinhão, girassol, nabo, tremoço, mamona, colza e pequi, por ICP OES.

Parâmetros instrumentais	
Potência da radiofrequência (kW)	1,3
Vazão da amostra (mL min ⁻¹)	1,3
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	0,2
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,6
Número de replicatas	3
Comprimentos de onda (nm) das linhas espectrais de emissão atômica (I) e iônica (II) e vistas empregadas	
Ca (II) 422,673 Radial	K (II) 766,490 Radial
Cd (I) 228,803 Axial	Mg (I) 285,211 Radial
Cr (II) 283,563 Axial	Mn (II) 259,373 Axial
Co (II) 228,616 Axial	Ni (II) 231,604 Axial
Cu (I) 324,752 Axial	Pb (I) 283,306 Axial
Fe (II) 259,939 Radial	Zn (I) 213,857 Axial

2.3.4 Procedimentos de Preparo das Amostras

As amostras de tortas de oleaginosas foram secas em estufa por 12 h a 65 °C, trituradas em liquidificador e acondicionadas em frascos fechados. Antes da moagem, as amostras foram novamente secas em estufa por 72 h à 65 °C. Após resfriamento foram submetidas à moagem criogênica em nitrogênio líquido (- 195,8 °C). O processo foi conduzido com uma etapa de pré-congelamento de cinco minutos seguida por 15 ciclos de moagem de dois minutos cada e intervalos de re-congelamento de 1 minuto. Para tanto utilizou-se cerca de 100 gramas de amostra por rodada de moagem.

2.3.4.1 Procedimento de Digestão Assistido por Radiação Micro-ondas em Forno com Cavidade

O procedimento de digestão das tortas foi realizado de duas maneiras distintas:

- I. Foram pesadas cerca de 250 mg das amostras diretamente nos frascos de digestão do forno de micro-ondas seguida da adição de 7,0 mL de HNO₃ concentrado e 1,0 mL H₂O₂.
- II. Foram pesadas cerca de 250 mg das amostras diretamente nos frasco de digestão do forno de micro-ondas seguida da adição de 3,0 mL de HNO₃ concentrado. A mistura ficou em repouso por 30 minutos, em seguida foram adicionados 1,0 mL H₂O₂ e 4,0 mL de H₂O.

Em ambos procedimentos, os frascos foram submetidos ao programa de aquecimento do forno de micro-ondas como descrito na Figura 2.1. A digestão dos materiais certificados foi realizada de acordo com o procedimento II.

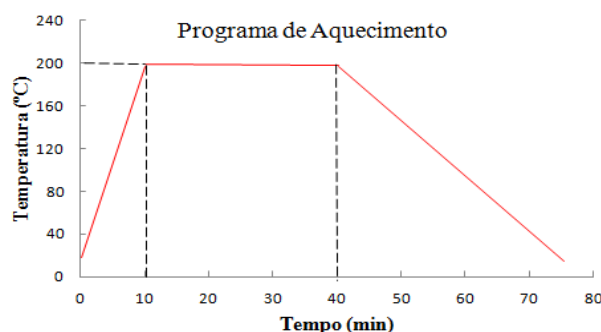


Figura 2.1. Etapas do programa de aquecimento em forno de microondas para digestão das amostras de tortas de oleaginosas

Após o resfriamento dos frascos (temperatura ambiente), os digeridos foram transferidos quantitativamente para tubos Falcon graduados e o volume final foi ajustado para 20 mL com água tipo I. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata, sendo obtidos também os brancos analíticos para cada situação.

Os elementos Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn foram determinados diretamente nos digeridos por ICP OES. As curvas de calibração por padrão externo foram preparadas em solução 1,75 mol L⁻¹ de HNO₃. Para a avaliação do efeito de matriz, as curvas matrizadas foram preparadas a partir de digerido de torta de girassol (de acordo com o procedimento II) na proporção de 40 % v v⁻¹ de digerido.

2.3.4.2 Procedimento de Extração em Bloco Digestor

As extrações foram realizadas com procedimento do MAPA (Brasil, 2007) utilizando cerca de 250 mg de tortas de mamona, palma, nabo forrageiro e pinhão manso, pesadas diretamente em tubo de digestão, em que foram adicionados 25,00 mL das soluções extratoras. Os tubos foram posicionados no bloco digestor, temperatura ajustada para 140 °C, e submetidos a aquecimento por 10 minutos após a ebulição. Após o resfriamento, a mistura foi filtrada em papel de filtro faixa preta, transferida quantitativamente para tubo Falcon graduado e o volume foi ajustado para 35,00 mL com água tipo I. Simultaneamente foram preparadas provas em branco. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Os elementos Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn foram determinados diretamente nos extratos por ICP OES. As curvas de calibração analítica por padrão externo foram preparadas em solução de AC, CNA e DTPA.

2.3.4.3 Procedimento para Escolha das Linhas de Emissão dos Analitos e Configuração Axial ou Radial Empregadas no ICP OES

A escolha das linhas de emissão dos analitos e da configuração óptica a ser empregadas em todas as determinações foi realizada a partir da análise de solução multielementar de digerido de torta de pequi. Para tanto, o digerido foi fortificado com Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn de forma que a concentração dos elementos na solução multielementar (40 % v v⁻¹ de digerido) fosse da ordem de 100 mg L⁻¹ para Ca e Mg, 7 mg L⁻¹ de Mn e Cu, 25 mg L⁻¹ de Fe, 14 mg L⁻¹ de Zn, 1 mg L⁻¹ de Ni, 2,5 mg L⁻¹ de Cr, 0,1 mg L⁻¹ de Cd, 2 mg L⁻¹ de Pb e 0,1 mg L⁻¹ de Co. Essas concentrações foram baseadas nos valores estabelecidos pela legislação para nutrientes e contaminantes (Brasil, 2009 e 2006) e na diluição do procedimento de digestão.

Estudos preliminares indicaram que a torta de pequi apresenta menores teores dos analitos dentre as investigadas, portanto esta foi escolhida como matriz a ser fortificada com os analitos de interesse.

O sinal analítico obtido para cada elemento foi comparado em pelo menos dois comprimentos de ondas de emissão distintos e nas configurações axial e radial. A condição (linhas de emissão – vista) que proporcionou maior sinal analítico foi a selecionada para as determinações seguintes.

2.3.5 Avaliação dos Parâmetros de Desempenho do Método de Digestão em Forno de Micro-ondas com Cavidade e ICP OES

2.3.5.1 Efeito de Matriz

As curvas analíticas multielementares (Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn) foram preparadas com soluções de referências em sete níveis de concentração (Tabela 2.3) em meio contendo HNO₃ 1,75 mol L⁻¹ e em meio contendo digerido de torta de girassol (40% v v⁻¹ de digerido). Para avaliação do efeito de matriz, a cada ponto da curva foi adicionado um volume fixo de solução digerida de torta de girassol (8,0 mL). Brancos analíticos (ponto zero da curva) foram preparados e tiveram suas emissões medidas como ferramenta de controle interno de qualidade.

Esta avaliação foi realizada através da comparação das inclinações correspondentes à curva de calibração externa (sem presença de matriz) e a matrizada por meio do teste F e t-Student para variâncias combinadas ou distintas.

Tabela 2.3. Faixas de concentração das curvas de calibração usada na avaliação do efeito de matriz e na determinação de metais em tortas de oleaginosas.

Elemento	Faixa de Concentração (mg L⁻¹)
Ca, K, Mg	2,5 - 125
Fe, Mn	0,5 - 25
Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn	0,1 - 5

2.3.5.2 Limite de Detecção e Quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) da técnica empregada foram calculados de acordo com as Equações 2.1 e 2.2, respectivamente, onde a concentração equivalente ao sinal de

fundo (BEC) é calculada de acordo com a Equação 2.3 e a razão entre o sinal do analito e o sinal de fundo (SBR) foi calculado de acordo com a Equação 2.4 (Andrade, 2012; Naozuka et al., 2011; Froes et al., 2009). Para os cálculos desses limites, utilizou-se a solução de referência mais concentrada da curva analítica, bem como sua intensidade. Também foi utilizado a intensidade e o desvio padrão de 10 brancos analíticos independentes.

$$LD = \frac{3BEC \times RSD_{(brancos)}}{100} \quad (2.1)$$

$$LQ = \frac{10BEC \times RSD_{(brancos)}}{100} \quad (2.2)$$

$$BEC = \frac{C_{sr}}{SBR} \quad (2.3)$$

$$SBR = \frac{I_{(sr)} - I_{(branco)}}{I_{(branco)}} \quad (2.4)$$

Onde:

RSD é o desvio padrão relativo para as 10 medidas do branco analítico, C_{sr} é a concentração da solução de referência mais concentrada, I_{sr} é a intensidade de emissão da solução de referência de maior concentração e I_{branco} é a intensidade de emissão do branco analítico.

2.3.5.3 Veracidade e Precisão

A veracidade e a precisão do método foram avaliadas a partir da análise de materiais de referência certificados de folha de espinafre - CRM 1570a e de folha de pêssigo - CRM 1547, realizada com quatro repetições independentes.

A precisão foi estimada em termos de repetitividade e determinada pelo desvio padrão relativo (DPR), de acordo com a Equação 2.5:

$$DPR (\%) = \frac{S \times 100}{\bar{C}} \quad (2.5)$$

Em que S é o desvio padrão obtido a partir das replicatas de análises e C é a concentração média.

De acordo com o guia orientativo do INMETRO para validação de métodos analíticos, a repetitividade pode ser expressa quantitativamente em termos de característica da dispersão dos resultados e pode ser determinada por meio da análise de padrões, material de referência ou adição do analito ao branco da amostra. O número de replicatas de cada nível de concentração deve expressar a rotina do laboratório (INMETRO, 2011).

A veracidade foi determinada em termos da recuperação do analito presente nos materiais certificados avaliados, de acordo com a Equação 2.6 (INMETRO, 2011):

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{Valor observado} \times 100}{\text{Valor certificado}} \quad (2.6)$$

2.4 Resultados e Discussão

2.4.1 Pré Tratamento da Amostra

A cominuição e a homogeneização da amostra são etapas importantes e necessárias a fim de assegurar a representatividade da fração analisada e evitar segregação dos analitos avaliados. Além disso, o tamanho reduzido de partículas aumenta a área de ataque dos reagentes, facilitando os procedimentos de digestão de amostras ou os procedimentos de extração. Para tanto, as tortas de oleaginosas foram processadas em moinho criogênico. Na Figura 2.2 são apresentados os perfis de distribuição granulométrica das tortas de oleaginosas, curvas de frequência acumuladas do tamanho de partículas. A faixa de distribuição granulométrica referente a esses perfis é descrita na Tabela 2.4. Como pode ser observado, o procedimento de moagem resultou em 90% da massa das amostras com diâmetro de partículas na faixa de 59 a 183 μm . A distribuição do tamanho de partículas obtida é adequada para a finalidade do trabalho. Tipicamente a moagem criogênica de materiais diversos podem proporcionar partículas com diâmetros que variam de 30 a 500 μm , de acordo com a complexidade da amostra e o tempo de moagem empregado (Santos Júnior et al., 2003). A torta de palma apresenta o maior teor lipídico dentre as avaliadas, e esta característica influenciou na sua moagem. Quando submetida aos ciclos de moagem criogênica formava uma pasta sem diferença apreciável em sua granulometria.

Tabela 2.4 – Distribuição granulométrica das partículas de tortas de oleaginosas após moagem criogênica de 15 ciclos de 2 min.

Amostra	Diâmetro de 10% do material menor que (μm)	Diâmetro de 50% do material menor que (μm)	Diâmetro de 90% do material menor que (μm)	Diâmetro médio (μm)
Tremoço	4,3	19,8	58,7	26,6
Nabo	2,7	16,0	62,9	25,5
Pequi	3,9	15,8	74,9	35,0
Colza	2,8	16,3	80,8	30,3
Mamona	2,8	36,1	100,6	48,3
Girassol	3,8	25,0	107,4	49,6
Pinhão	4,2	25,7	182,5	62,8

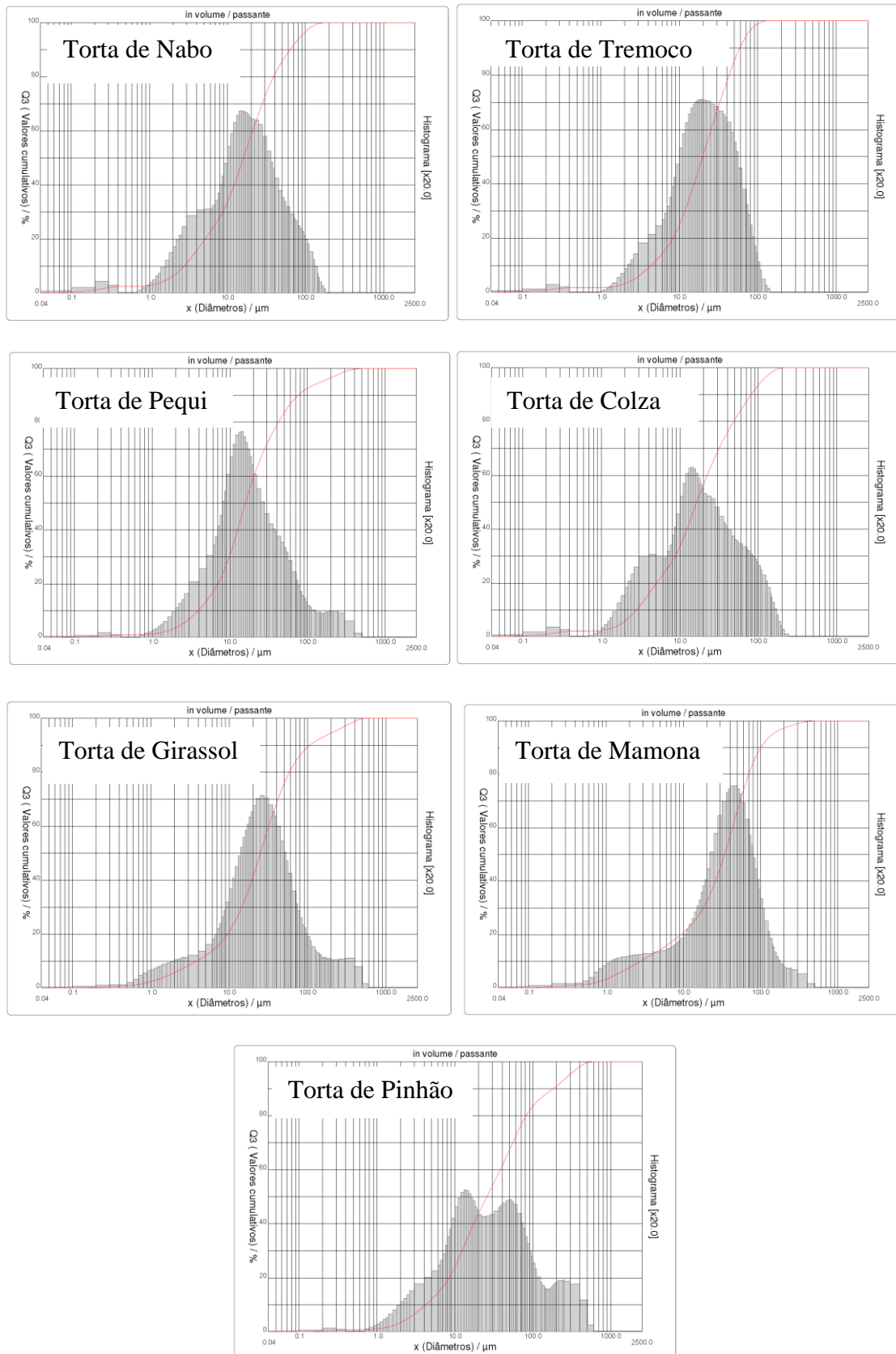


Figura 2.2. Distribuição do diâmetro de partículas de amostras de tortas de nabo, tremoço, pequi, colza, girassol, mamona e pinhão após moagem moagem criogênica de 15 ciclos de 2 min.

2.4.2 Digestão Assistida por Radiação Micro-Ondas

Os procedimentos de digestão assistida por radiação micro-ondas - (i) 7,0 mL de HNO₃ concentrado + 1,0 mL de H₂O₂ e (ii) 3,0 mL de HNO₃ concentrado + 1,0 mL de H₂O₂ e 4,0 mL de água - aplicados as tortas de oleaginosas resultaram em digeridos límpidos, exceto para a torta de palma que apresentou um resíduo esbranquiçado (Figura 2.3) em ambas condições. A análise por fluorescência dispersiva de raios-X (EDX) desses resíduos indicou uma composição de 99,77% de sílica (SiO₂). Comumente se emprega ácido fluorídrico para a decomposição de matriz silicatada, entretanto, visto que a porção não digerida é predominantemente de sílica, considerou-se que essa não afetará na determinação total dos demais analitos nessa torta.

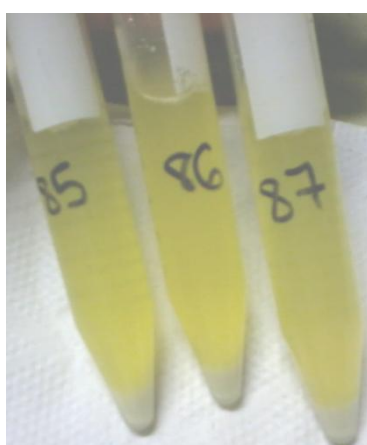


Figura 2.3. Digerido de torta de palma após decomposição assistida por radiação microondas – 7,0 mL HNO₃ concentrado e 1,0 mL de H₂O₂ – Programa de aquecimento do micro-ondas: rampa de aquecimento de 10 min – 30 min de aquecimento a 200°C. Tubos 85;86 e 87 representam as replicatas das análises.

A utilização do ácido nítrico diluído é vantajosa por produzir menores quantidades de resíduos, menores desvios padrão e reduzir o desgaste de equipamentos com nebulização pneumática.

O trabalho de Andrade (2014) reporta a eficiência de digestão assistida por radiação MW de tortas de oleaginosas empregando ácido nítrico diluído. O autor aponta que não houve diferença apreciável na composição dos digeridos de tortas de girassol, nabo forrageiro e pinhão manso quando empregou-se diferentes concentrações de HNO₃ (14; 7,0 e 1,4 mol L⁻¹).

Naozuka e colaboradores (2011) avaliaram o teor de carbono residual (RCC) dos digeridos de sementes e polpas de vegetais empregando ácido diluído. De acordo com os autores, as soluções de todas as amostras avaliadas apresentaram RCC na faixa de 4,9 a 13,4 % m m⁻¹. Os autores

ressaltam que os baixos percentuais de carbono residual obtidos nos digeridos são devidos a eficiente combinação do sistema de digestão em vasos fechados e a mistura de oxidantes diluídos.

Nesse sentido, para o presente trabalho, escolheu-se conduzir as digestões utilizando o procedimento que emprega 3,0 mL de HNO₃ concentrado + 1,0 mL de H₂O₂ e 4,0 mL de água, o que resulta em uma concentração final de ácido no digerido em torno de 5,3 mol L⁻¹.

2.4.3 Efeito de Matriz e Limites de Detecção e Quantificação

Nas Figuras 2.4 e 2.5 são apresentadas as curvas analíticas sem matriz (meio nítrico) e com presença de matriz (40% v v⁻¹ de digerido de torta de girassol) e as respectivas equações de regressão pelo método dos mínimos quadrados ordinários - MMQO.

Não foi observado efeito de matriz pelo teste t-Student, ao nível de confiança de 95%, entre a curva preparada com padrão e branco analítico e a curva preparada com padrão e matriz para grande maioria dos casos. Os poucos casos em que o teste t indicou efeito significativo (Fe, Cu e Zn), a diferença entre as inclinações ficou em torno de 15%, 10% e 5%, respectivamente e, portanto, foi desconsiderada. Desta forma, a curva preparada com padrão e branco analítico foi utilizada em todos os experimentos.

Na Tabela 2.5 são apresentados os valores estimados de LD e LQ do método obtidos a partir das Equações 2.1 – 2.4, Os limites de quantificação se encontram na faixa de 0,02 mg kg⁻¹ para Cd a 113 mg kg⁻¹ para Ca, adequados para a quantificação de nutrientes e contaminantes previstos pela legislação de fertilizantes (Brasil, 2006; 2009). De acordo com o documento orientativo do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) sobre validação de métodos analíticos, para a validação de um método analítico, é normalmente suficiente fornecer uma indicação do nível em que a detecção do analito pode ser distinguida do sinal do branco/ruído (INMETRO, 2011).

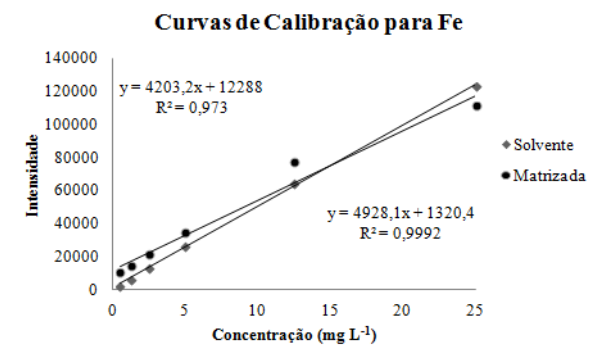
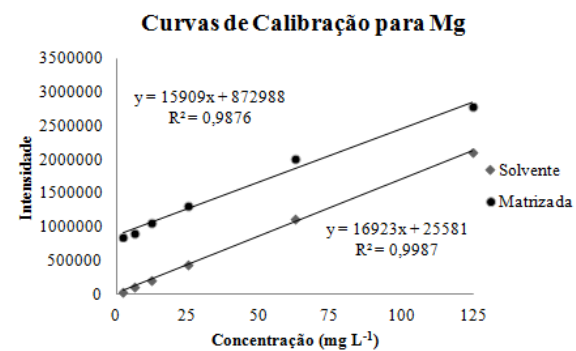
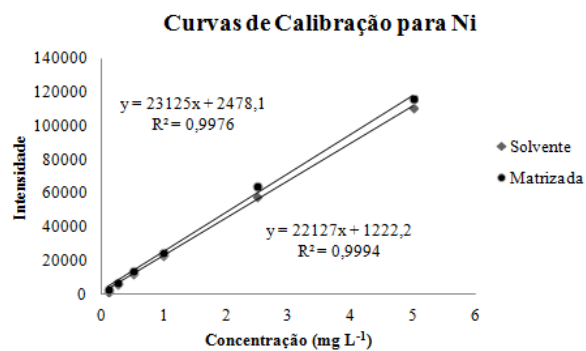
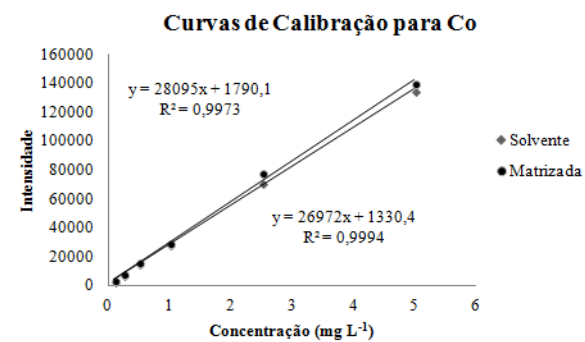
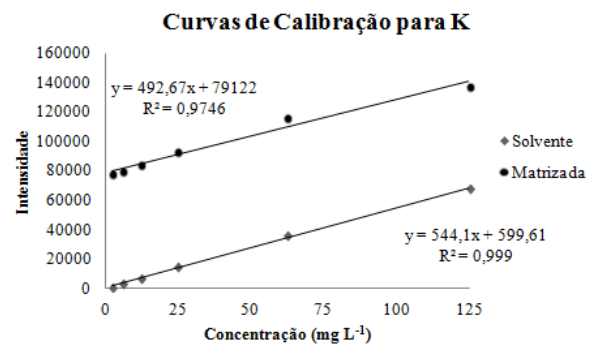
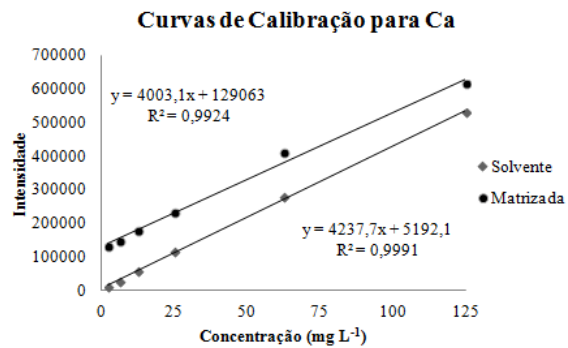


Figura 2.4. Curvas de calibração com matriz e sem adição de matriz para Ca, K, Co, Ni, Mg e Fe.

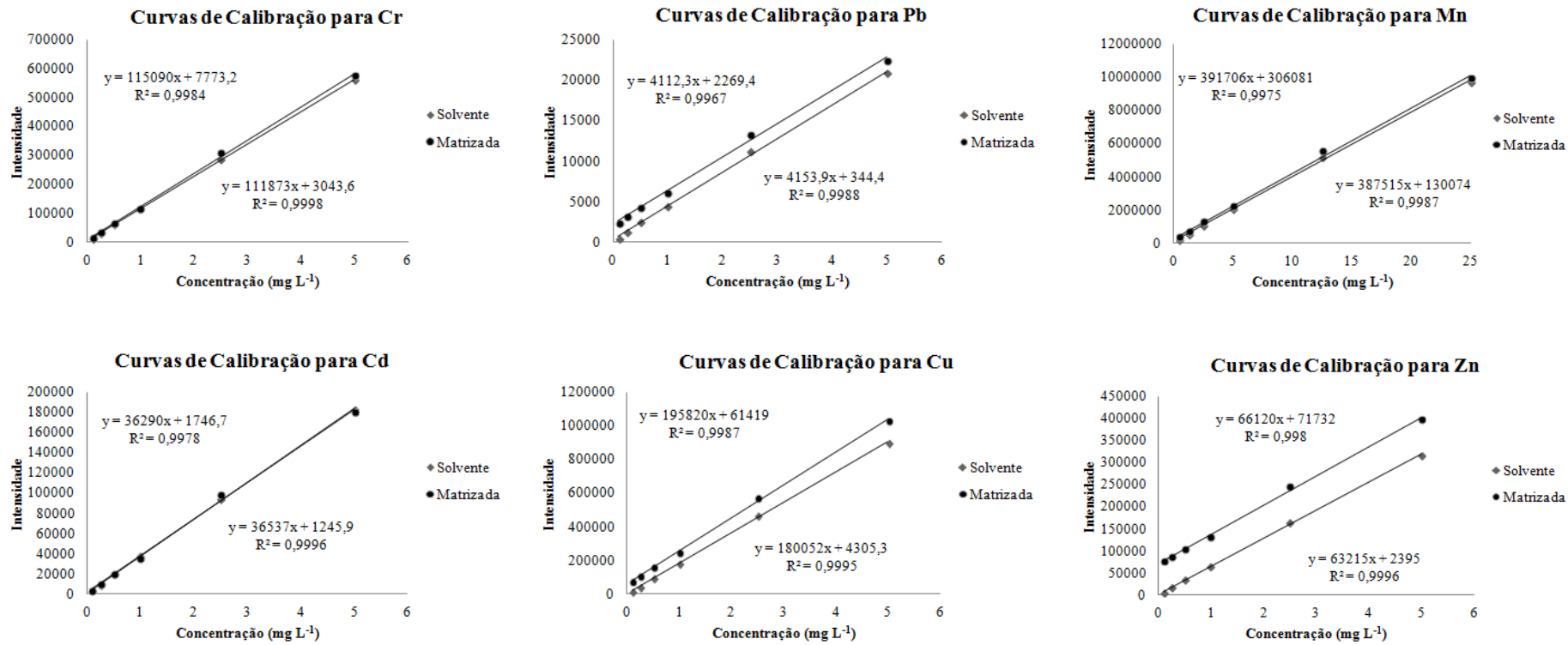


Figura 2.5. Curvas de calibração com matriz e sem adição de matriz para Cr, Pb, Mn, Cd, Cu e Zn.

Tabela 2.5. Limites de Detecção e Quantificação estimados por meio da avaliação de brancos analíticos, e valores mínimos de nutrientes e máximos de contaminantes permitidos em fertilizantes orgânicos, de acordo com a legislação (Brasil, 2006; 2009).

Analito	LD estimado (mg kg⁻¹)	LQ estimado (mg kg⁻¹)	Valores da legislação (mg kg⁻¹)
Ca	34,4	113	10 x 10 ³
Mg	1,84	6,08	10 x 10 ³
Mn	5,60	18,4	0,5 x 10 ³
Fe	1,66	5,47	2 x 10 ³
Cd	0,007	0,023	3
Cr	1,70	5,62	200
Co	0,094	0,312	50
Ni	0,696	2,30	70
Cu	0,155	0,512	500
Zn	0,121	0,398	1 x 10 ³
Pb	0,492	1,62	150

2.4.4 Veracidade e Precisão

A veracidade e a precisão do método foram estimadas pela análise de dois materiais de referência certificados (folha de espinafre - CRM 1570a e de folha de pêssgo - CRM 1547), realizada com quatro repetições independentes. Os materiais selecionados, apesar de serem de origem vegetal, não são de tortas de oleaginosas e conseqüentemente podem apresentar características diferentes na forma como os analitos estão ligados à matriz, teor de lipídios, dentre outros, em comparação com as oleaginosas. Os CRM apresentam tamanho de partículas de aproximadamente 75 µm, enquanto que as tortas apresentam granulometria entre 59 – 183 µm (Tabela 2.4), sendo que as tortas de tremçoço (59 µm), nabo (63 µm) e pequi (75 µm) apresentam 90% de suas partículas com diâmetros inferiores ou próximos aos dos CRM. Em contrapartida, a composição de alguns macronutrientes nesses materiais (Ca, K, Mg, N, P) se aproxima da encontrada nas tortas, além de apresentarem a composição certificada de contaminantes como Cd, Ni e Pb, importantes que sejam avaliados para o método. Estes fatores devem ser levados em consideração na utilização destes materiais para avaliação do desempenho do método analítico, visto que quando aplicado nas amostras de tortas o o desempenho pode ser alterado. Contudo, entende-se que é possível obter uma boa estimativa da veracidade e precisão do método a partir desses materiais.

Na Tabela 2.6 são apresentados: os valores certificados, os valores determinados, a porcentagem de recuperação e o desvio padrão relativo das medidas associados aos elementos avaliados nos CRM.

As recuperações para K, Zn, Mn e Cu no CRM NIST 1547 encontram-se dentro da faixa aceitável, que varia de 80 a 110%, para os níveis de concentrações avaliados (Taverniers, et al., 2004). O resultado obtido para Ca (111%) apresentou cerca de 1% de erro em relação a faixa aceitável, contudo no CRM NIST 1570a, cuja composição desse analito é semelhante a apresentada no CRM NIST 1547 (cerca de 15000 mg kg⁻¹), a recuperação está dentro da faixa aceitável (103%). Mg e Fe tiveram suas recuperações superestimadas (133 e 125%, respectivamente), no CRM NIST 1570a a recuperação para Mg também foi superestimada (116%), entretanto o valor de referência não é certificado e assim o julgamento fica limitado. Mn no CRM NIST 1570a apresentou recuperação abaixo do limite aceitável (78%) mas no CRM NIST 1547 a recuperação foi aceitável (88%).

As recuperações superestimadas para Mg podem estar associadas a interferências espectrais com outros elementos da matriz, entretanto mais estudos são necessários para se chegar a esta conclusão. Assim, considera-se que para os analitos Ca, K, Zn, Mn e Cu existe boa concordância com o valor certificado e determinado, e o método apresenta veracidade aceitável.

Os analitos Cr, Co e Ni apresentam concentrações abaixo do limite de quantificação do método e, portanto, não foram quantificados.. A precisão em termos de repetitividade apresentou desvios padrões relativos abaixo de 5% para os elementos avaliados (faixa aceitável de 1,3 – 11%, Taverniers et al., 2004). Portanto o método possui boa precisão para a faixa de concentração avaliada.

Tabela 2.6. Valores certificados e concentrações determinadas (média ± desvio padrão) para os CRM de folha de pêsego e folha de espinafre, precisão e recuperação para o método proposto.

MRC		Folhas de Pêssego NIST 1547			Folhas de Espinafre NIST 1570a			
Elemento	Valor Certificado $x \pm s$ (mg kg ⁻¹)	Valor Determinado $x \pm s$ (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	Recuperação (%)	Valor Certificado $x \pm s$ (mg kg ⁻¹)	Valor Determinado $x \pm s$ (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	Recuperação (%)
Ca	15600 ± 200	17258 ± 504	2,9	111	15260 ± 660	15713 ± 281	1,8	103
K	24300 ± 300	24506 ± 513	2,1	101	29000 ± 260	27516 ± 478	1,7	95
Mg	4320 ± 80	5768 ± 105	1,8	133	9000*	10476 ± 291	2,8	116
Fe	218 ± 14	273,0 ± 7,8	2,9	125		318,8 ± 6,6	2,1	
Zn	17,9 ± 0,4	17,6 ± 0,5	2,9	98	82,3 ± 3,9	81,1 ± 1,7	2,1	99
Mn	98 ± 3	86 ± 4	4,7	88	76 ± 1,2	58,9 ± 1,9	3,2	78
Cu	3,7 ± 0,4	3,1 ± 0,1	3,9	84	12,22 ± 0,86	11,8 ± 0,3	2,5	97
Cr	1*	<LQ						
Co	0,07*	<LQ			0,393 ± 0,030	<LQ		
Ni	0,69 ± 0,09	<LQ			2,142 ± 0,058	<LQ		

* Valor não certificado. LQ: Limite de quantificação do método.

2.4.5. Avaliação dos Teores de Nutrientes e Contaminantes Presentes nas Tortas de Oleaginosas

O método proposto foi empregado para análise das tortas de pinhão manso, girassol, nabo forrageiro, tremoço, mamona, colza, pequi e palma para determinação de Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn . Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 2.7.

A torta de palma é a única que apresentou teores de Ca ($16,3 \text{ g kg}^{-1}$), Mg ($11,2 \text{ g kg}^{-1}$), Mn ($0,768 \text{ g kg}^{-1}$) e Fe (33 g kg^{-1}) acima do limite mínimo de nutrientes recomendado pelo MAPA (Brasil, 2009) para um material orgânico ser considerado como fertilizante provedor desse nutriente (10; 10; 0,5 e 2 g kg^{-1} , respectivamente). A torta de tremoço apresentou apenas o teor de Mn ($0,552 \text{ g kg}^{-1}$) dentro do limite exigido pela legislação. As demais tortas apresentaram os nutrientes em quantidades inferiores às exigidas pela legislação. Nesse caso, o teor desses elementos não deverá ser especificado no rótulo do produto, indicando que tais produtos não servem como fonte desses nutrientes.

Em relação aos contaminantes (Cd, Pb, Ni e Cr), Ni foi quantificado nas tortas de palma (17 mg kg^{-1}), mamona ($2,6 \text{ mg kg}^{-1}$), nabo (13 mg kg^{-1}), girassol ($0,81 \text{ mg kg}^{-1}$) e pinhão ($0,48 \text{ mg kg}^{-1}$) em quantidades inferiores ao máximo estipulado pela legislação (70 mg kg^{-1}). Cr na torta de palma (69 mg kg^{-1}), pequi ($0,34 \text{ mg kg}^{-1}$), mamona ($12,9 \text{ mg kg}^{-1}$) e girassol ($0,17 \text{ mg kg}^{-1}$) também em quantidades inferiores a máxima permitida para esse contaminante (200 mg kg^{-1}). Para Pb, cujo valor máximo permitido é de 150 mg kg^{-1} , sua concentração nas tortas variaram de $9,0 \text{ mg kg}^{-1}$ em pequi e 95 mg kg^{-1} em palma. Cádmiu não foi quantificado em nenhuma das tortas de oleaginosas analisadas. Vale ressaltar que esses resultados se referem a apenas um lote de amostras analisado e que as concentrações podem variar muito de um lote para outro, dependendo da procedência do vegetal.

A composição mineral das tortas de oleaginosas é fortemente dependente da fisiologia da planta, composição, fonte de água e adubos, inseticidas, pesticidas e fungicidas utilizados nas plantações, bem como da região de plantio e da safra de colheita. Desta forma, diferentes tortas de uma mesma oleaginosa podem apresentar grande variação composicional.

Na Tabela 2.8 são apresentados dados da composição mineral de tortas de mamona, pinhão, girassol, nabo e sementes de mamona e girassol reportados na literatura. O teor de Ca encontrado em tortas de mamona, por exemplo, varia de 0,5 a $2,9 \text{ g kg}^{-1}$, variação observada também para os

demais elementos investigados. Outro fato interessante é observado na variação composicional da torta e da semente da oleaginosa. A concentração dos elementos investigados nas sementes de mamona e girassol é bem inferior à concentração encontrada nas tortas dessas oleaginosas. Além da procedência das amostras, outro fator que pode contribuir para isso é o processo de prensagem da semente para obtenção do óleo que funciona como uma etapa de concentração dos analitos na torta, podendo-se inferir que os analitos por serem hidrofílicos não são transferidos para a fração lipídica.

Na tabela 2.9 são apresentados os desvios padrões relativos das medidas. Observa-se que os maiores DPR estão associados as medidas dos analitos em baixas concentrações nas tortas: Cr na torta de pequi (32%), mamona (31%) e girassol (35%) e Ni na torta de pinhão (46%). Para os demais analitos os DPR variaram de 0,3 – 11%, concordantes com os DPR encontrados para as medidas realizadas com os CRM, exceto para Fe e Mn (16%) na torta de mamona.

Tabela 2.7. Composição dos digeridos de tortas de oleaginosas (mg kg⁻¹) (média ± desvio padrão, n = 3).

Torta	Palma	Pequi	Mamona	Nabo	Colza	Girassol	Pinhão	Tremoço
Ca	16278 ± 660	906 ± 43	2977 ± 41	3606 ± 51	6251 ± 253	2617 ± 56	5768 ± 68	1911 ± 62
K	15259 ± 518	7246 ± 318	12410 ± 189	11089 ± 124	10245 ± 480	13001 ± 174	13490 ± 152	10151 ± 285
Mg	11199 ± 325	1210 ± 52	4625 ± 57	3950 ± 67	5411 ± 222	4535 ± 87	6007 ± 58	1868 ± 55
Fe	33402 ± 936	55 ± 2	298 ± 48	923 ± 11	72 ± 5	137,0 ± 3,3	234 ± 6	109 ± 5
Zn	80 ± 10	11,8 ± 0,3	74 ± 1	59 ± 0,4	63 ± 1	93,5 ± 0,8	134,1 ± 1,8	66,9 ± 1,3
Mn	768 ± 7,0	<LQ	4,3 ± 0,6	16,3 ± 0,2	53,7 ± 1,5	14,0 ± 0,3	12,4 ± 0,7	552 ± 19
Cu	23,0 ± 0,7	8,5 ± 0,3	23,5 ± 0,4	5,2 ± 0,1	5,0 ± 0,1	26,2 ± 0,4	22,1 ± 0,2	9,8 ± 0,2
Cr	68,8 ± 1,3	0,34 ± 0,11	13 ± 4	<LQ	<LQ	0,17 ± 0,06	<LQ	<LQ
Co	8,60 ± 0,03	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Pb	94,7 ± 3,8	9,0 ± 0,9	33 ± 2	23,9 ± 1,3	29,2 ± 3,1	25,3 ± 2,3	30,3 ± 2,3	14,1 ± 0,7
Ni	16,9 ± 0,3	<LQ	2,6 ± 0,3	13,0 ± 0,4	<LQ	0,81 ± 0,04	0,48 ± 0,22	<LQ
Cd	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

Tabela 2.8. Composição química (média ± desvio padrão) de tortas de mamona, pinhão, girassol e nabo e sementes de mamona e nabo reportados na literatura.

Tortas	Mamona	Pinhão	Girassol	Nabo
Ca (g kg⁻¹)	2,9 ± 0,5 (Andrade, 2012) 0,25 ± 0,01* (Chaves et. al., 2010) 0,5 – 1,8 (Freire & Nobrega, 2006) 7,5 (Lima et. al., 2011)	50 ± 2 (Andrade, 2012) 5,2 (Potes et. al., 2011)	2,6 ± 0,1 (Andrade, 2012) 0,16 ± 0,02* (Chaves et. al., 2010)	34,9 ± 0,8 (Andrade, 2012)
Mg (g kg⁻¹)	4,3 ± 0,2 (Andrade, 2012) 0,23 ± 0,02* (Chaves et. al., 2010) 0,5 – 0,9 (Freire & Nobrega, 2006) 5,1 (Lima et. al., 2011)	5,3 ± 0,2 (Andrade, 2012) 6,8 (Potes et. al., 2011)	4,2 ± 0,1 (Andrade, 2012) 0,35 ± 0,04* (Chaves et. al., 2010)	4,0 ± 0,1 (Andrade, 2012)
Mn (mg kg⁻¹)	17 ± 1 (Andrade, 2012) 12,46 ± 1,87* (Chaves et. al., 2010) 55 – 400 (Freire & Nobrega, 2006) 37 ± 1,4 (Teixeira, 2014)	29,1 ± 0,4 (Andrade, 2012)	30,3 ± 0,8 (Andrade, 2012) 24,31 ± 6,45* (Chaves et. al., 2010)	28 ± 2 (Andrade, 2012)
Fe (mg kg⁻¹)	167 ± 8 (Andrade, 2012) 45,44 ± 6,90* (Chaves et. al., 2010) 1.000 – 1.400 (Freire & Nobrega, 2006) 520 ± 10 (Teixeira, 2014)	212 ± 7 (Andrade, 2012)	142 ± 3 (Andrade, 2012) 66,00 ± 15,92* (Chaves et. al., 2010)	1,69 ± 0,02 (Andrade, 2012)
Zn (mg kg⁻¹)	58,6 ± 0,7 (Andrade, 2012) 43,78 ± 5,48* (Chaves et. al., 2010) 100 – 141 (Freire & Nobrega, 2006) 16,7 ± 0,3 (Teixeira, 2014)	121 ± 5 (Andrade, 2012)	88 ± 2 (Andrade, 2012) 46,54 ± 1,04* (Chaves et. al., 2010)	64 ± 2 (Andrade, 2012)
Cu (mg kg⁻¹)	17 ± 1 (Andrade, 2012) 10,93 ± 1,20* (Chaves et. al., 2010) 70 – 80 (Freire & Nobrega, 2006) 10,5 ± 0,3 (Teixeira, 2014)	21,5 ± 0,5 (Andrade, 2012)	25,2 ± 0,9 (Andrade, 2012) 17,11 ± 5,33* (Chaves et. al., 2010)	6,6 ± 0,1 (Andrade, 2012)
Ni (mg kg⁻¹)	1,30 ± 0,09* (Chaves et. al., 2010)		1,01 ± 0,38 (Chaves et. al., 2010)	
Pb (mg kg⁻¹)	3,7 ± 0,2 (Andrade, 2012) 0,043 ± 0,006* (Chaves et. al., 2010)	5,5 ± 0,1 (Andrade, 2012)	0,011 ± 0,003* (Chaves et. al., 2010) 4,6 ± 0,2 (Andrade, 2012)	

* Indica composição das sementes

Tabela 2.9. Desvio padrão relativo das determinações dos analitos nas tortas (n = 3).

Torta	Ca	K	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Cr	Co	Pb	Ni
DPR (%)											
Palma	4,1	3,4	2,9	2,8	12	0,9	3,0	1,9	0,3	4,0	1,8
Pequi	4,8	4,4	4,3	4,0	2,5		3,5	32		10	
Mamona	1,4	1,5	1,2	1,6	1,3	14	1,7	31		5,8	11
Nabo	1,4	1,1	1,7	1,2	0,7	1,2	1,9			5,4	2,8
Colza	4,0	4,7	4,1	6,4	1,6	2,8	2,0			10	
Girassol	2,1	1,3	1,9	2,4	0,9	2,1	1,5	35		9,1	4,9
Pinhão	1,2	1,1	1,0	2,7	1,3	5,6	0,9			7,6	46
Tremoço	3,2	2,8	3,0	4,2	1,9	3,5	2,0			5,0	

2.4.6 Teor Total x Disponibilidade

Outro aspecto importante a ser investigado em se tratando de nutrição vegetal é a fração disponível do nutriente presente no fertilizante orgânico. Entende-se por biodisponibilidade de qualquer elemento a sua fração correspondente às concentrações extraídas das amostras que poderão ser absorvidas por organismos vivos.

Para avaliação da disponibilidade, o procedimento de extração foi aplicado as tortas de mamona, palma, nabo forrageiro e pinhão manso com extratores químicos AC e CNA de acordo com recomendação da legislação brasileira para fertilizantes inorgânicos (Brasil, 2007) e com DTPA, agente quelante estudado na extração de Cu, Fe, Mn e Zn dos solos e fertilizantes minerais (Bataglia & Raij, 1994; Vale & Alcarde, 1999; Anjos & Mattiazzo, 2001; Oliveira, 2000, Paim et al., 2006). Dos elementos investigados, apenas Ca, Mg, Mn, Fe e Zn foram quantificados pelo método, os resultados de porcentagem de extração das tortas são apresentados na Tabela 2.10.

Cálcio - Observa-se que os extratores AC e CNA extraíram praticamente todo o Ca presente nas tortas de mamona, nabo e pinhão, podendo-se pensar que ele se encontra na forma solúvel e passível de ser extraída. Esse comportamento não foi observado para a torta de palma quando se empregou o AC (57% de extração), contudo com CNA a porcentagem de recuperação foi elevada (91%), sugerindo que nessa torta o Ca se encontra, pelo menos parcialmente, passível de ser extraído. A extração de Ca com DTPA não se aplica porque no preparo dessa solução extratora utilizou-se CaCl_2 com a finalidade de proporcionar ao meio uma força iônica próxima a encontrada nos solos.

Magnésio – A porcentagem de extração de Mg das tortas variou consideravelmente com os diferentes extratores empregados. Observa-se maiores porcentagens de extração de Mg das tortas de mamona, nabo e pinhão com o extrator AC. A solução de AC é relativamente diluída, mas de acidez elevada (pH 1,7), desta forma pode-se inferir que essa solubiliza formas pouco solúveis de Mg. A baixa solubilização de Mg pelo DTPA pode ser um indicativo de sua baixa eficiência de extração de Mg no pH dessa solução extratora (pH 7,3). Em relação à torta de palma, as porcentagens de Mg extraídas estão entre 19 – 22%, indicando que esse elemento não se encontra totalmente disponível para ser solubilizado. Cabe ressaltar a importância da determinação do teor disponível de um nutriente em detrimento à determinação apenas do teor total. Se avaliarmos apenas o teor total, como recomendando pelo MAPA, essa torta preenche os requisitos para ser utilizada como fertilizante orgânico em relação a esse nutriente, entretanto quando se avalia o teor disponível a quantidade de Mg é inferior ao exigido pela legislação.

Tabela 2.10. Porcentagem de extração de Ca, Mg, Mn, Fe e Zn em tortas de oleaginosas empregando os extratores AC, CNA e DTPA.

Torta	(% Extração Ca)		
	Ácido Cítrico	Citrato Neutro de Amônio + Água	DTPA
Mamona	110	98	NA
Palma	57	91	NA
Nabo	119	102	NA
Pinhão	109	100	NA
(% Extração Mg)			
Mamona	91	76	23
Palma	22	21	19
Nabo	106	80	46
Pinhão	106	89	21
(% Extração Mn)			
Mamona	90	20	< LQ
Palma	66	66	57
Nabo	102	-	< LQ
Pinhão	96	-	< LQ
(% Extração Fe)			
Mamona	11	1	< LQ
Palma	11	11	10
Nabo	3	4,6	< LQ
Pinhão	19	30	< LQ
(% Extração Zn)			
Mamona	98	96	55
Palma	1,7	10	1
Nabo	112	99	46
Pinhão	111	110	56

NA = Não se aplica ao método utilizado. (-) Não extraído.

Manganês – Nas condições experimentais utilizadas, foi possível quantificar a porcentagem de Mn extraída com DTPA apenas na torta de palma, a qual apresentou maior teor desse analito ($0,768 \text{ g kg}^{-1}$). Com a solução de CNA foi possível quantificar a porcentagem de extração de Mn apenas na torta de mamona (20%), enquanto que a solução de AC extraiu 90, 102 e 96% de Mn das tortas de mamona, nabo e pinhão, respectivamente. Mais uma vez observa-se a possibilidade da solução de AC ter maior caráter extrator devido a sua maior acidez. O Mn extraível da torta de palma se encontra na faixa de 57-66%.

Ferro – A porcentagem de extração de Fe da torta de palma, pelos três extratores utilizados, praticamente foi a mesma, indicando que nessa torta apenas 11% do teor total de Fe se encontra passível de ser solubilizado e extraído, e essa quantidade, cerca de $3,4 \text{ g kg}^{-1}$ extraível se encontra acima do recomendado pelo MAPA (2 g kg^{-1}). DTPA não se mostrou efetivo na extração de Fe nas demais tortas. Em geral a porcentagem de extração de Fe das tortas foi baixa, fato que pode estar associado a esse elemento se encontrar mais fortemente ligado a matriz.

Zinco – AC e CNA foram mais efetivos na extração de Zn das tortas de mamona, nabo e pinhão do que DTPA. A torta de palma mostrou baixo percentual de Zn extraível nos extratores investigados (1,7, 10 e 1% com AC, CNA e DTPA, respectivamente), sugerindo que esse elemento não se encontra totalmente passível de ser solubilizado e extraído nas diferentes condições de pH pelos extratores investigados.

Em estudos de disponibilidade de nutrientes em fertilizantes são importantes as correlações entre os teores adicionados pelos fertilizantes e os absorvidos pelas plantas, contudo nesse trabalho objetivou-se apenas a avaliação da disponibilidade dos nutrientes presentes nas tortas de oleaginosas com base na solubilização nas soluções extratoras empregadas.

2.4.7 Relação Carbono/Nitrogênio

Uma das mais importantes características de um subproduto para ser utilizado como fertilizante orgânico é o nitrogênio potencialmente disponível, uma vez que depois da água, esse nutriente é o fator limitante mais importante no crescimento das plantas. A incorporação ao solo de materiais orgânicos afeta a dinâmica populacional dos microorganismos e também a disponibilidade de alguns nutrientes, em especial o nitrogênio. Materiais com alta concentração de carbono, mas pouco nitrogênio (alta relação C/N) geralmente são lentamente mineralizadas e induzem a deficiência de nitrogênio às plantas, pois os micro-organismos absorvem grande parte

do N disponível, o qual só volta a ser disponibilizado após a decomposição do material adicionado (Mielniczuk, 1999).

A legislação de fertilizantes brasileira (Brasil, 2009) especifica que as tortas vegetais utilizadas como fertilizantes orgânicos devem conter no mínimo 35 % m m⁻¹ e 5% m m⁻¹ de carbono e nitrogênio, respectivamente, e a relação carbono/nitrogênio (C/N) deve ser no máximo 20.

Os resultados das determinações de C e N das tortas de oleaginosas são apresentados na Tabela 2.11. Todas as tortas avaliadas apresentaram teor de carbono superior a 35% m m⁻¹, exceto a torta de palma (28% m m⁻¹). Entretanto somente as tortas de nabo, tremoço, pinhão e colza apresentam teor de N superior a 5% m m⁻¹. As tortas de pequi e palma apresentaram a relação C/N superior a 20. Deste modo as únicas tortas que se enquadram no padrão de qualidade estabelecido pela legislação vigente em relação ao teor de C e N são: nabo, tremoço, pinhão e colza.

Tabela 2.11. Valores referentes à determinação elementar de C e N nas tortas (média ± desvio padrão).

	C - Total (%)	N - Total (%)	C/N
Mamona	48,3 ± 5,4	3,2 ± 0,4	14,8
Girassol	49,3 ± 0,1	3,67 ± 0,07	13,5
Nabo	50,4 ± 0,1	5,44 ± 0,01	9,3
Temoço	49,4 ± 3,0	7,0 ± 0,4	7,0
Pequi	48,70 ± 0,02	1,04 ± 0,01	46,7
Palma	28,4 ± 0,8	0,08 ± 0,01	369,3
Pinhão	47,3 ± 0,2	5,65 ± 0,26	8,4
Colza	53,2 ± 2,3	5,16 ± 0,22	10,6

2.5 Conclusão

O método de digestão assistida por radiação MW das tortas de oleaginosas e a quantificação dos analitos nos digeridos por ICP OES utilizados neste trabalho se mostraram como uma potencial alternativa aos métodos preconizados pelo MAPA para o controle de qualidade de insumos orgânicos a serem utilizados como fertilizantes. O procedimento de preparo da amostra é rápido e a quantificação simultânea dos nutrientes e contaminantes por ICP OES possibilita uma maior versatilidade no controle do processo de produção dos fertilizantes.

Contudo, entende-se que mais estudos devem ser conduzidos para avaliação da veracidade do método para os elementos que apresentaram recuperações fora do limite aceitável para a faixa de concentração avaliada (Mg, Fe).

Embora nenhuma amostra contenha todos micronutrientes com os teores mínimos estabelecidos pela legislação, isto não é impedimento para usá-las como fertilizantes orgânicos, apenas não são consideradas como fonte do nutriente que está abaixo do mínimo requerido, desde que os demais requisitos previstos na legislação sejam atendidos. Adicionalmente, nenhuma torta apresentou teor de contaminantes igual ou superior ao máximo permitido pela legislação.

As diferentes porcentagens de extrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn das tortas de oleaginosas obtidas com as soluções extratoras empregadas podem estar relacionadas com diferentes interações dos analitos com as matrizes. Este comportamento foi bem variado entre as amostras, demonstrando a importância de uma avaliação mais completa.

A partir das soluções extratoras, observou-se que Fe nas tortas avaliadas não está totalmente disponível. Apesar da torta de palma apresentar os maiores teores de analitos, dentre as avaliadas, os nutrientes Mg, Mn e Zn não estão totalmente disponíveis, como indicaram as baixas porcentagens de extrações. Esses resultados contribuem significativamente para reforçar a necessidade da indicação em relação à disponibilidade de nutriente também para os fertilizantes orgânicos e organominerais, visto que essa indicação só é obrigatória para fertilizantes minerais de acordo com o preconizado pelo MAPA (Brasil, 2007).

Os resultados obtidos neste estudo refletem apenas a avaliação de um lote de tortas de oleaginosas quanto aos teores de alguns macro, micronutrientes e contaminantes, os quais podem

variar de acordo com a região de plantio e safra de colheita, com o tipo de tratamento do solo e suas particularidades.

2.6 Referências

Agazzi, A.; Pirola, C. Fundamentals, methods and future trends of environmental microwave sample preparation. **Microchemical Journal**, v. 67, p. 337 – 341, 2000.

Andrade, F.P Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de constituintes inorgânicos em tortas de biodiesel para avaliação de potencialidades de utilização para nutrição animal. **Tese** (Doutorado em Química Analítica), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2012.

Anjos, A. R. M.; Mattiazzo, M. E. Extratores para Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn em latossolos tratados com bio-sólidos e cultivados com milho. **Scientia Agricola**, v. 58, p. 337 – 344, 2001.

Aydin I. Comparison of dry, wet and microwave digestion procedures for the determination of chemical elements in wool samples in Turkey using ICP OES technique. **Microchemical Journal**, v. 90, p.82 – 87, 2008.

Bataglia, O. C.; Raij, B. Soluções extratoras na avaliação da fitodisponibilidade do zinco em solos. . **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 19, p-457-461, 1994.

Bizzi, C. A.; Flores, E. M. M.; Barin, J. S.; Garcia, E. E.; Nobrega, J. A.; Understanding the process of microwave-assited digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent. **Microchemical Journal**, v. 99, p. 193 – 196, 2011.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº28 de 27 de julho de 2007.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº24 de 20 de junho de 2007.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº25 de 28 de julho de 2009.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº27 de 06 de junho de 2006.

Castro, J. T.; Santos, E. C.; Santos, W. P. C.; Costa, L. M.; Korn, M.; Nóbrega, J. A.; Korn, M. G. A. A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in

closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 78, p. 1378-1382, 2009.

Chaves, E.S.; Santos, E.J.; Araújo, R.G.O.; Oliveira, J.V.; Frescura, V.L.A.; Curtis A.J. Metals and phosphorus determination in vegetable seeds used in production of biodiesel by ICP OES and ICP-MS. **Microchemical Journal**, v. 96, p.71 – 76, 2010.

Cindrić, I.J.; Zeiner, M.; Kröppl, M.; Stingeder, G. Comparison of sample preparation methods for the ICP-AES determination of minor and major elements in clarified apple juices. **Microchemical Journal**, v. 99, p. 364 – 369, 2011.

Cindrić, I.J.; Krizman, I.; Zeiner, M.; Kampic, S.; Medunic, G. ICP-AES determination of minor and major elements in apples after microwave assisted digestion. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2675–2680, 2012.

Froes, R.E.S.; Neto, W.B.; Silva, N.O.C.; Naveira, R.L.P.; Nascentes, C.C.; da Silva, J.B.B. Multivariate optimization by exploratory analysis applied to the determination of microelements in fruit juice by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v.64, p. 619 – 622, 2009.

Gonzalez, M.H; Souza, G.B.; Oliveira, R.V.; Forato, L.A.; Nobrega, J.A.; Nogueira, A.R.A. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. **Talanta**, v. 79, p. 396 – 401, 2009.

Hoening, M.; Baeten, H.; Vanhentenrijk, S.; Vassileva, E.; Quevauviller, P. Critical discussion on the need for an efficient mineralization procedure for the analysis of plant material by atomic spectrometric methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 358, p. 85 – 94, 1998.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; Orientações sobre Validação de Métodos Analíticos; DOQ-CGRE-008. 2011.

Krug, F. J. Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. Piracicaba: copiadora Luiz de Queiros, 2008.

Marchi, G.; Guilherme, L. R. G.; Silva, C. A.; Gonçalves, V. C. Elementos traço e sua relação com qualidade e inocuidade de fertilizantes, corretivos agrícolas, e resíduos orgânicos no Brasil. Embrapa Cerrados, Platina, DF, 2009. 45p (**Documentos 252**).

Mielniczuk, J. Matéria orgânica e a sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: Santos, G.A; Camargo, F.A.O. (ed.), Fundamentos da matéria orgânica do solo - Ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Gênese, 1999.

Naozuka J.; Vieira E.C.; Nascimento A.N.; Oliveira P.V. Elemental analysis of nuts and seeds by axially viewed ICP OES. **Food Chemistry**, v.124, p.1667 – 1672, 2011.

Oliveira, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: Evolution and future trends. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 14, n. 2, p. 174 – 182, 2003.

Oliveira, F. C. Disposição de lodo de esgoto e composto de lixo urbano num latossolo vermelho amarelo cultivado com cana de açúcar. **Tese (Doutorado)** – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2000, 247p.

Paim, L. A.; Carvalho, R.; Abreu, C. M. P.; Guerreiro, M. C. Estudo dos efeitos do silício e do fósforo na redução da disponibilidade de metais pesados em área de mineração. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 28 – 33, 2006.

Petry, C. F. Determinação de elementos traços em amostras ambientais por ICP OES. **Dissertação** (Mestrado em Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto alegre, RS, 2005.

Pires, A. M. M.; Mattiazzo, M. E.; Berton, R. S. Ácidos orgânicos como extratores de metais pesados fitodisponíveis em solos tratados com lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p. 671 – 676, 2004.

Santos Júnior, D.; Tomazelli, A. C.; Krug, F. J.; Nóbrega, J. A. Moagem criogênica para o preparo de amostras em técnicas analíticas. **Revista Analytica**, v.3, p.40 – 44, 2003.

Smith, F. E., Arsenault, E. A. Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry. **Talanta**, v.43, p.1207 - 1268, 1996.

Taverniers I., De Loose M. e Bockstaele E.V.. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. **Trends in Analytical Chemistry**. v.23, n.8, p. 535 – 552, 2004.

Teixeira, L. S., Vieira, H. P., Windmüller, C. C., Nascentes, C.C. Fast determination of trace elements in organic fertilizers using a cup-horn reactor for ultrasound-assisted extraction and fast sequential flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v.119, p. 232 - 239, 2014.

Teixeira, L. S. Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de micronutrientes e contaminantes em fertilizantes orgânicos. **Tese** (Doutorado em Química Analítica), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2014.

Vale, F.; Alcarde, J. C. Solubilidade e disponibilidade dos micronutrientes em fertilizantes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p-441-451, 1999.

Zhou, C. Y.; Wong, M. K.; Koh, L. L. Microwave-assisted dilute acid extraction of trace metals from biological samples for atomic absorption spectrometric determination. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.11, p. 585 – 590, 1996.

CAPÍTULO 3

**ANÁLISE RÁPIDA DE TORTAS DE OLEAGINOSAS POR
ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR
REFLEXÃO TOTAL**

Capítulo 3 – Análise Rápida de Tortas de Oleaginosas por Epectrometria de Fluorescência de raios X por reflexão total

3.1 Introdução

Com o aumento da demanda por informações multielementares em diferentes áreas: ambiental, biológica, industrial, dentre outras, técnicas analíticas rápidas e sensíveis são cada vez mais desejáveis. Neste sentido, a espectrometria de fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF – *Total Reflection X-ray Fluorescence*) vem ganhando aceitabilidade devido a seus benefícios.

A fluorescência de raios X por reflexão total foi proposta como uma técnica especial para análise espectral de raios X por Yoneda e Horiuchi em 1971 (Klockenkamper & Von Bohlen, 2014), desde então, tornou-se uma técnica analítica bem estabelecida, cuja popularidade vem aumentando nos últimos anos. A Figura 3.1 mostra a evolução do número de publicações reportando o uso de TXRF, incluindo revisões e trabalhos originais. A razão para isso pode estar associada ao aperfeiçoamento na instrumentação, levando a limites de detecção em nível de ppb ($\mu\text{g kg}^{-1}$ e $\mu\text{g L}^{-1}$) e a viabilidade de equipamentos portáteis (De La Calle et, 2013). No presente, TXRF apresenta uma sensibilidade próxima à fornecida por outras técnicas de espectrometria atômica, tornando-se adequada também para análise de elementos traço.

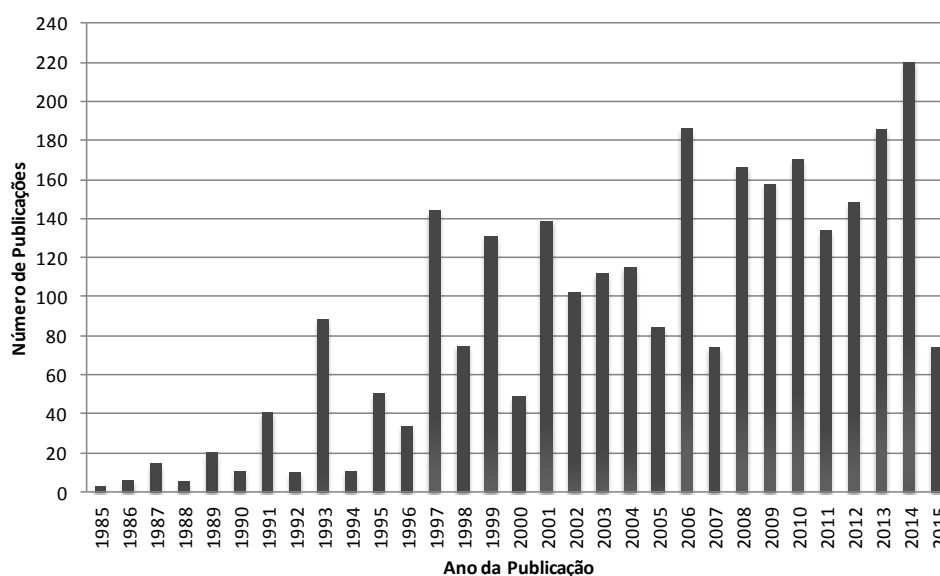


Figura 3.1. Evolução do número de publicações referentes à TXRF desde 1985 com o termo de busca “TXRF”. O número de publicações em 2015 é referente ao primeiro semestre. Fonte: Portal de periódicos da CAPES, 2015.

As vantagens da TXRF incluem:

- capacidade para análises multielementares simultânea - tipicamente do Na ao U;
- análise qualitativa e quantitativa de amostras sólidas, líquidas e gasosas;
- independente da forma química em que as espécies se encontram;
- pequeno consumo de amostra (μL ou μg);
- baixo ruído de radiação de fundo (*background*);
- simples calibração com o uso de padrões internos (P.I.);
- baixos limites de detecção (ppb);
- amplo intervalo de medida ($\mu\text{g kg}^{-1}$ a %);
- fácil operação, nenhum consumo de gás ou água para resfriamento;
- tempo de análise relativamente curto (100-1000s).

Adicionalmente, existem aparelhos portáteis para análises *in loco* (De La Calle et al, 2013).

No entanto, assim como outras técnicas que utilizam detectores semicondutores (SDD), a TXRF apresenta desvantagens relativas à resolução espectral e sobreposição de picos, que pode resultar em valores superestimados ou subestimados para elementos presentes em baixas concentrações. Outra desvantagem associada à técnica é a impossibilidade de detecção de elementos que são utilizados para gerar os raios X para excitação da amostra.

As aplicações da técnica englobam uma variedade de matrizes, independente de seu estado físico: materiais biológicos, vegetais, compostos farmacêuticos, sedimentos, materiais sintéticos, aerossol, arqueológicos, dentre outros (Guimarães et al, 2012; Abraham, 2010; Dhara & Misra, 2011; Kunimura & Kawai, 2010; Cinose et al, 2011; Kropf, 2010; Necemer, 2009; De La Calle et al, 2012; Magalhães et al, 2006; Vázquez et al, 2010; Alvarez et al, 2003; Borgese et al, 2010; 2011; Boman et al, 2010; Fittschen et al, 2008; Cariati et al, 2003; Huhnerfub et al., 2006; Ardid et al., 2004; Mertens et al, 2001; Misra et al, 2009; Varga, 2007; Hatzistavros, et al, 2011; Hatzistavros, et al, 2007).

De fato, a TXRF tem se mostrado uma técnica competitiva com as técnicas analíticas atômicas bem estabelecidas como ICP OES, ICP MS e AAS e suas variantes. É uma técnica de grande importância e adequação especialmente para aplicações em que apenas uma quantidade muito pequena da amostra esta disponível, uma vez que são requeridos alguns microlitros ou microgramas para análise. Assim, pode ser bastante útil quando aplicada na análise de materiais de valores históricos e culturais e também nos casos de investigações forenses.

3.2 Fluorescência de raios X por Reflexão Total

A técnica de fluorescência de raios X por reflexão total (*Total Reflection X Ray Fluorescence – TXRF*) pode ser vista como um caso especial da Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (EDXRF) que surgiu para solucionar, principalmente, a baixa sensibilidade da EDXRF. Enquanto o ângulo de incidência e o de fluorescência emitida são de aproximadamente $45^\circ/45^\circ$ na EDXRF, na TXRF são de $0,1^\circ/90^\circ$ conforme mostrado na Figura 3.2 (Klockenkamper & Von Bohlen, 2001; Wobrauschek, 2007).

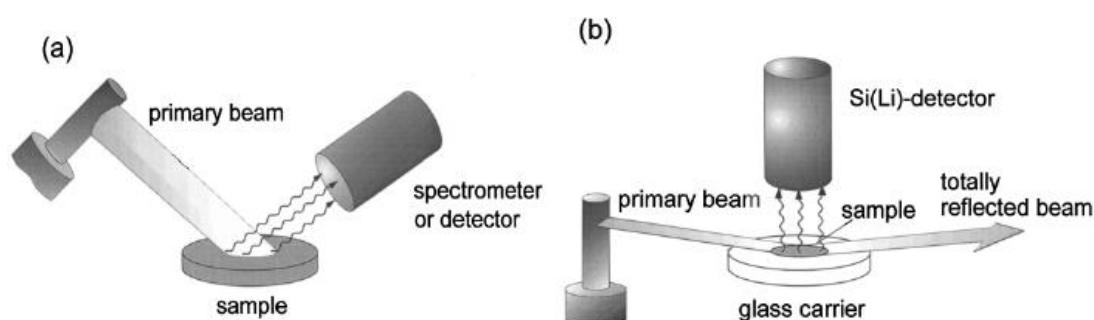


Figura 3.2 Arranjo simplificado usado para (a) fluorescência de raios X convencional e para (b) TRXF. Fonte: Klockenkamper & Von Bohlen, 2001.

Essa diferença na geometria faz com que ocorra a reflexão total dos raios X incidentes quando o feixe atinge a superfície da amostra depositada na forma de um filme fino. Como o feixe de radiação atinge a amostra com um ângulo muito pequeno, condição de reflexão total, observa-se uma redução da absorção e do espalhamento da radiação na superfície da amostra, o que resulta em baixos ruídos da radiação de fundo (*background*) e melhores limites de detecção. Além do mais, a amostra é excitada duas vezes, uma pelo feixe incidente de radiação e a outra pelo feixe refletido. A radiação emitida é detectada perpendicularmente e bem próxima à amostra (3 a 5 mm) por um detector de dispersão de energia. Desta forma, o rendimento de fluorescência é bem alto e a absorção pelo ar é muito pequena devida à pequena distância entre a amostra e o

detector. Na TXRF os efeitos de matriz são pequenos, desde que a condição da amostra estar na forma de filme fino seja atendida.

3.2.1 Análise Quantitativa em TXRF

Na TXRF as quantidades de amostras utilizadas são normalmente muito pequenas (μL , μg) e podem por isso ser consideradas como filmes finos. Para análises quantitativas, basta uma simples calibração pela adição de padrão interno às amostras, permitindo assim, a correção de fatores como flutuações no gerador de raios X, erros operacionais (ex.: pipetagem) e demais instabilidades do sistema. Para isso, o elemento escolhido como padrão interno, não deve estar presente na amostra, ou ocorrer em baixíssimas concentrações, e não deve interferir no(s) elemento(s) a ser(em) quantificado(s). Sendo assim, padrões internos mais comumente utilizados são Ga, Y e Ge (Rocha, 2015).

A Equação básica para análise quantitativa é a que relaciona a intensidade dos raios X característicos, com a sensibilidade elementar, como apresentado a seguir:

$$I_i = C_i \cdot S_i \quad (3.1)$$

Onde:

I_i é a intensidade (cps) da linha característica $K\alpha$ ou $L\alpha$ emitida;

C_i é a concentração (mg L^{-1} ou mg kg^{-1}) do analito i na solução analisada;

S_i é a sensibilidade elementar do sistema (cps/ppm – mg L^{-1} ou mg kg^{-1}) para o analito i .

Para o padrão interno, a Equação 3.1 é descrita como:

$$I_p = C_p \cdot S_p \quad (3.2)$$

A sensibilidade relativa do elemento S'_i é um valor adimensional que indica a relação entre a intensidade do pico do analito e a quantidade na amostra. Geralmente, as sensibilidades relativas podem ser determinadas pelo cálculo de parâmetros fundamentais como probabilidade de excitação, eficiência do detector, dentre outros. No entanto, uma maneira simplificada de se obter o valor de S'_i é por meio da análise de uma solução multielementar de concentrações

conhecidas, e calcular o fator de sensibilidade que se baseia no pico de cada elemento (Rocha, 2015).

O valor da sensibilidade relativa pode ser determinado efetuando-se a divisão da Equação 3.1 pela 3.2, ou seja, a razão da sensibilidade do analito S_i e a sensibilidade do padrão interno S_p .

$$S'_i = \frac{I_i \cdot C_p}{I_p \cdot C_i} \quad (3.3)$$

Para o cálculo da concentração do analito basta reorganizar a equação 3.3:

$$C_i = \frac{I_i \cdot C_p}{I_p \cdot S'_i} \quad (3.4)$$

A intensidade da sensibilidade do elemento refere-se a uma linha definida ou a um grupo de linhas. Isto depende da série de linha aplicada para a quantificação do elemento. Normalmente, $K\alpha_{1,2}$ é usada para a $K_{séries}$ e $L\alpha_1$ para a $L_{séries}$. A sensibilidade relativa do elemento é sempre válida para uma configuração de equipamento de TXRF particular. Mudanças no tipo de excitação ou do detector levam a novas sensibilidades elementares (Bruker, 2012).

3.2.2 Limite de Detecção em TXRF

O limite de detecção (LD) é a menor quantidade de um elemento que pode ser discriminada estatisticamente em relação à radiação de fundo (*background*). Em se tratando de determinações por TXRF, os elementos são identificados e quantificados através de seus picos de fluorescência, logo, o LD baseia-se numa inspeção estatística da área do pico e a radiação de fundo subjacente a este pico.

Esta radiação de fundo se apresenta como uma linha aproximadamente contínua sob os picos e consiste no resultado das interações das radiações espalhadas pela amostra com o detector e, também, das próprias radiações emitidas pela matriz da amostra. Na Figura 3.3 é apresentado um fragmento de espectro de raios X para o material NIST 1640 (material certificado de água natural) indicando o sinal da radiação de fundo (N_{BG}) para o elemento Rb.

Assim, um elemento i é considerado detectado se a área do pico for três vezes maior que a da radiação de fundo e quantificado, acuradamente, se a intensidade do pico exceder em 10 vezes.

Esse procedimento é conhecido como o critério 3-sigma e é mostrado na equação 3.5 (Bruker, 2012; Kump, 1997; Karjou, 2007; Alvarez-Vazquez et al., 2014; Cherkashina et al., 2014, Rocha, 2015):

$$LD_i = \frac{3 \cdot \sqrt{I_{BG}}}{S_i} \quad (3.5)$$

Onde:

LD_i é o limite de detecção (mgL^{-1} ou mg kg^{-1}) do analito i ;

I_{BG} é a intensidade (cps) do background abaixo do pico do analito i ;

S_i é a sensibilidade elementar do sistema (cps/ppm) para o analito i .

Substituindo a Equação 3.1 na 3.5, obtém:

$$LD_i = \frac{3 \cdot C_i \sqrt{I_{BG}}}{I_i} \quad (3.6)$$

Essa última equação indica que o limite de detecção é inversamente proporcional à intensidade do pico que, por sua vez, é apresentada em contagens por segundo. Portanto, o limite de detecção é também uma função do tempo, sendo representada pela equação 3.7:

$$LD \approx \frac{1}{\sqrt{t}} \quad (3.7)$$

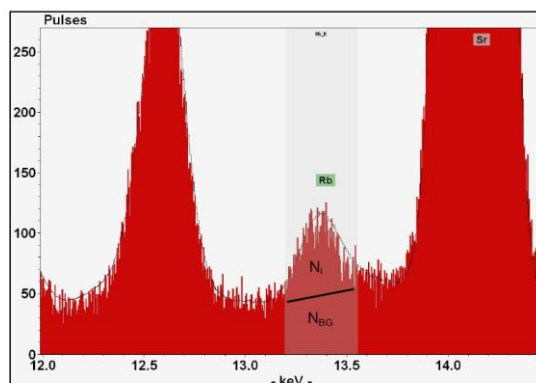


Figura 3.3. Fragmento de espectro de raios-X do material NIST 1640, em destaque a intensidade do sinal do *background* (N_{BG}) e o pico do analito Rb (N_i). Fonte: Bruker (2012).

3.2.3 Preparo de Amostras Empregado na Análise por TXRF

A princípio qualquer amostra pode ser analisada por TXRF e o tipo de preparo empregado varia de acordo com o seu estado físico e matriz. As amostras podem ser analisadas diretamente sem tratamento, ou podem passar por digestões ou calcinações (no caso de sólidos), extrações, pré-concentração (em se tratando de líquidos), suspensões, dentre outros. Na Figura 3.4 são apresentadas as possibilidades de preparo de amostras para análise por TXRF destacadas no tutorial de revisão de De La Calle et al., 2013.

Neste trabalho, o enfoque é dado ao preparo de suspensões. As amostras em forma de suspensão foram largamente utilizadas nos primeiros estágios de desenvolvimento da TXRF, nos dias de hoje, representa o segundo procedimento de preparo de amostra mais utilizado (15%), o primeiro é a mineralização (De La Calle et al, 2013).

Amostras em forma de suspensão foram aplicadas para análises de materiais biológicos (Meyer et al., 2012; De La Calle et al, 2012), alimentos (Stosnach, 2010), medicamentos (Shaw et al., 2012), solos (Cherkahina, et al., 2014; Towett et al., 2013), sedimentos (Alvarez-Vázquez, 2014), rochas, amostras arqueológicas (Bonizzoni et al., 2013), compostos sintéticos dentre outros.

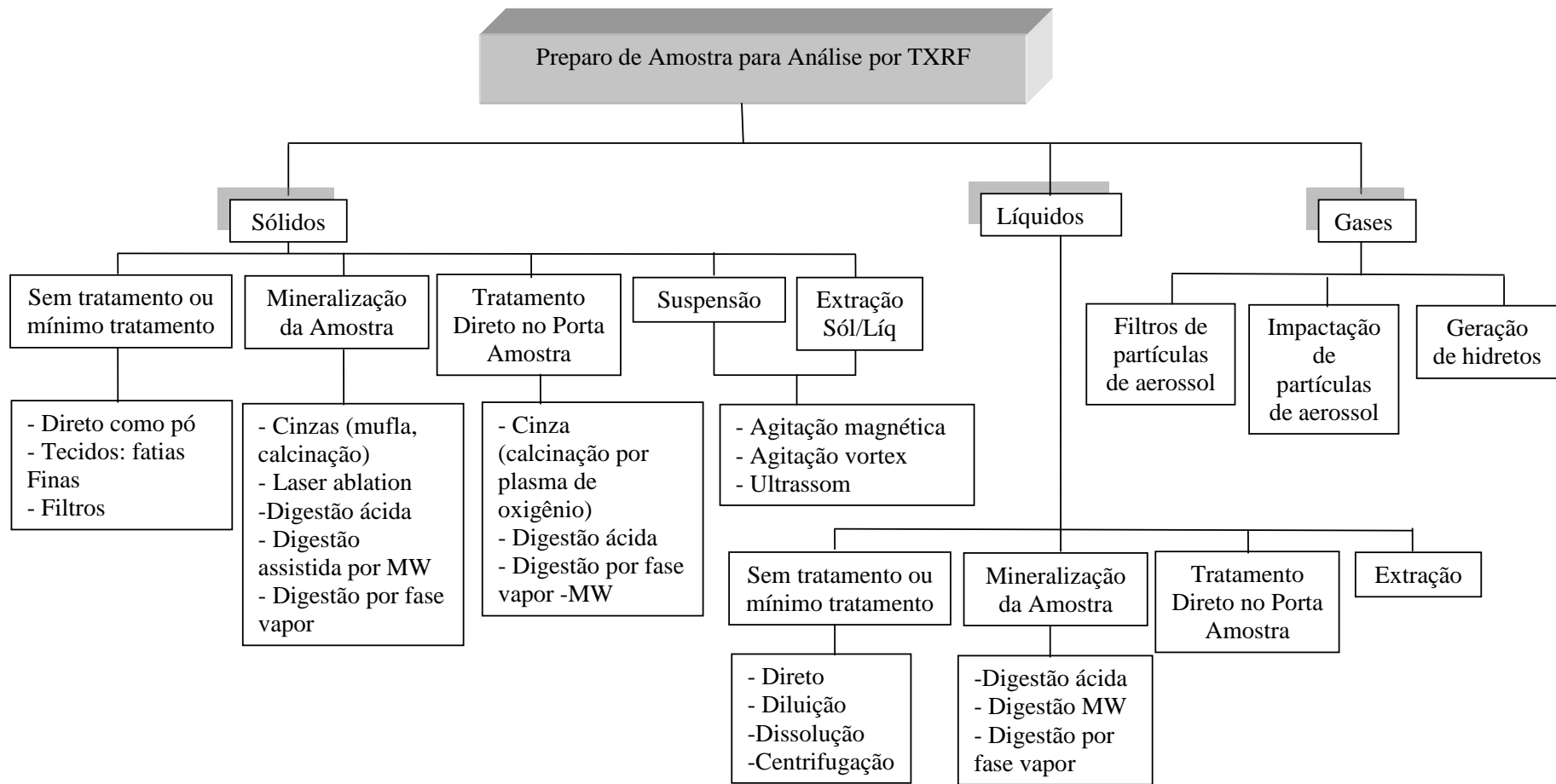


Figura 3.4. Diagrama de procedimentos de preparo de amostra encontrados na literatura para sólidos, líquidos e gases. Adaptado de De La Calle et al., 2013

Geralmente, as amostras na forma de pó (5-100 mg) são suspensas em água ou ácido nítrico diluído contendo um padrão interno e agentes estabilizantes. Surfactantes e agentes estabilizantes como Triton X-100, álcool polivinílico e polietilenoamino são comumente empregados. É necessário o uso de algum sistema de agitação para se obter uma suspensão homogênea e estável: agitação por vortex, agitação magnética, sonicação em banho ultrassom, sonicação com sonda, sonoreator do tipo *cup-horn*, dentre outros. Normalmente, quando a energia de ultrassom é aplicada, ocorre a erosão e a fragmentação das partículas e, portanto, a aglomeração dessas é evitada ou reduzida, tornando a suspensão mais estável e homogênea.

O efeito do tamanho das partículas na acurácia deve ser avaliado, sendo que pós mais finos são desejáveis a fim de se obter reprodutibilidade dos resultados quantitativos. Os surfactantes além de estabilizar as suspensões, permitem a distribuição homogênea da amostra sobre o porta amostra após a secagem do diluente. Sem surfactantes, as gotas de amostras encolhem após a secagem, em contrapartida, com surfactante, as gotas mantêm seu tamanho original (De La Calle et al., 2013).

O preparo de suspensão é uma operação de fácil realização e apresenta reduzidos riscos de contaminação e perda de analitos. Entretanto, a radiação de fundo (*background*) observada para amostras em suspensão, usualmente, é maior que nas amostras digeridas. Em amostras digeridas, a matriz é parcialmente solubilizada ou decomposta por ácidos o que aumenta a representatividade da massa de amostra depositada no disco, nenhuma ou poucas partículas estão presentes nos digeridos além de que o filme formado sobre o disco é mais homogêneo.

As vantagens e desvantagens associadas ao preparo da amostra em forma de suspensão devem ser levadas em conta e a aplicação desse procedimento deve ser avaliado de acordo com o objetivo que se deseja, por exemplo, para determinações de elementos em nível ultra traço, a digestão da amostra pode ser mais vantajosa que o uso de suspensão, visto que aquela proporciona menores radiações de fundo e conseqüentemente menores limites de detecção do que esta.

3.2.4 Etapas de Preparo na Análise por TXRF

A análise por TXRF requer quantidade diminutas de amostras, somente 1-200 µg de sólidos e 1-100 µL de líquidos devem ser depositados sobre o disco (que são geralmente de 30 mm de diâmetro e 3 mm de espessura) a fim de se alcançar bons resultados (De La Calle et al., 2013).

A condição para quantificação por meio do uso de padrão interno é que a amostra seja preparada como um filme fino com espessura $< 100 \mu\text{m}$. Em casos excepcionais, elas podem ser preparadas com espessuras de 0,5 mm (micro partículas) para análise qualitativa (Figura 3.5a). Entretanto, amostras muito espessas podem causar dano à janela do detector, já que esse se encontra muito próximo ao porta amostra. O diâmetro do filme de amostra não deve exceder 10 mm e contaminações na área exterior devem ser evitadas (Figura 3.5b).

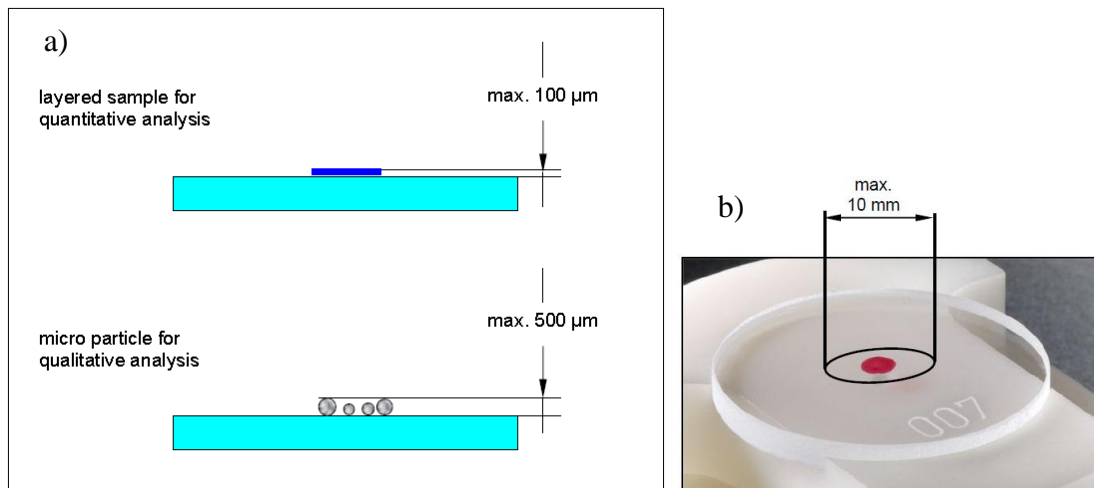


Figura 3.5. Espessura máxima da amostra no disco (a); indicação do diâmetro máximo para adição de amostra no disco (b). Fonte: Bruker, 2012.

De uma maneira geral, o preparo dos discos contendo as amostras para análise por TXRF é muito simples, como demonstrando na Figura 3.6. Se o disco utilizado for de quartzo, para amostras líquidas, procede-se a etapa de hidrofobização e posterior secagem. Para análise de soluções ou suspensões deve se depositar um volume de 5 a $50 \mu\text{L}$ da mistura no centro do disco de modo que ao secar se forme um filme fino.

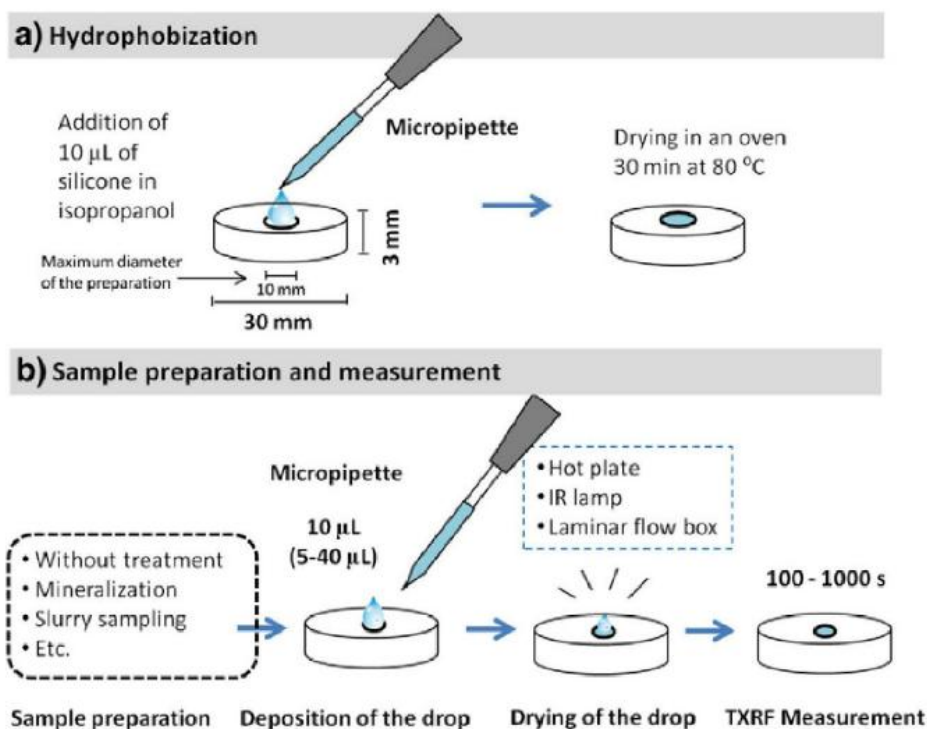


Figura 3.6. Esquema de preparo de amostra no disco de quartzo, incluindo a etapa de hidrofobização, adição de amostra e medida no TXRF. Fonte: De La Calle et al., 2013).

3.3 Explorando o Estado da Arte das Análises Quantitativas por TXRF

Vários trabalhos da literatura descrevem o uso da TXRF para análises quantitativas, na Tabela 3.1 são apresentados alguns para ilustração da aplicabilidade da técnica.

Os materiais vegetais têm sido analisados por TXRF tanto na análise direta de extratos e exsudatos quanto após a digestão. Trabalhos envolvendo o tratamento da amostra na forma de suspensão são escassos. Estudos de especiação química também são reportados (Szoboszlai et al, 2009; Klockenkamper & Von Bohlen, 1996; Margui et.al, 2009). Diversos estudos bioquímicos foram publicados nas últimas décadas em revistas de alto impacto reportando o sucesso da aplicação de TXRF para determinação elementar (Szoboszlai et al, 2009).

Na análise de tecidos animais e humanos, dois procedimentos de preparo de amostra são comumente empregados: digestão ácida ou analisados diretamente após serem cortados em camadas finas. Análises de dentes, ossos, cabelos, tecido da tireoide, placenta, mama, fígado, pulmão, dentre outros também são mencionados na literatura (Szoboszlai et al, 2009; Klockenkamper & Von Bohlen, 1996), assim como análises em nível traço e ultra traço de

amostras líquidas (Margui et al, 2014). A partir dos trabalhos citados pode-se ter uma dimensão da aplicabilidade da TXRF para determinação elementar em matrizes diversas.

Tabela 3.1 Determinação multielementar por TXRF na análise de matrizes diversas.

Matriz	Analitos	Preparo da Amostra	Referência
Cebolas	Ca, K, Mn, Fe, Cu e Zn	As amostras foram preparadas de três maneiras distintas: (i) extração com HNO ₃ em banho ultrassônico (lixiviação), (ii) digestão com HNO ₃ e H ₂ O ₂ em chapa aquecedora e (iii) calcinação a 700 °C e os resultados comparados.	Alvarez et al., 2003
Cebolas contaminadas com As	As	Após um período de 45 dias, as plantas foram coletadas e suas partes foram separadas (folhas, bulbo e raiz), secas a 60°C e digeridas com HNO ₃ e H ₂ O ₂ em chapa aquecedora. Co foi utilizado como padrão interno	Parra, 2011
Vegetais	Mn, Zn, Cu, Fe e Pb	As amostras foram digeridas com HNO ₃ por 48h em temperatura ambiente. Ga foi utilizado como padrão interno.	Ferri et al., 2012
Plantas medicinais	K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Rb e Sr	As amostras foram digeridas com HNO ₃ e H ₂ O ₂ , Ga foi utilizado como padrão interno.	Khuder et al., 2009
Proteína ABCE1	Fe e S	A proteína foi purificada em solução tampão Tris/Acetato e depositada no disco de quartzo, após secagem a razão Fe/S foi determinada usando Rb como padrão interno.	Barthelme et al., 2007
Proteína ICP8	Zn	As proteínas foram dissolvidas em 0,2 mol L ⁻¹ de acetato de sódio contendo 20% de glicerol.	Mapelli et al., 2000
Sangue Humano	Fe, Se, Zn, Cd e Pb	As amostras foram dissolvidas em hidróxido de tetrametil-amônio. Vanádio e Sr foram utilizados como padrão interno.	Martinez et al., 2004
Urina	Pt	Análise direta usando Co como padrão interno.	Greaves et al., 2000
Fígado humano	Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Pb	As amostras foram digeridas em forno de micro-ondas e Y foi utilizado com padrão interno.	Varga et al., 2005
Água de chuva	Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, V e Pb	Adição de 1 mL de HNO ₃ a 5,0 mL da água e 50 µL de solução 50 µL mL ⁻¹ de Ga, usado como padrão interno.	Dhara & Misra, 2011

(Continua...)

Matriz	Analitos	Preparo da Amostra	Referência
Rochas e águas (mineral, subterrânea e marítima)	K, Ca, V, Cu, Zn, Rb, Sr, Y, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Gd, Pb, U	Massas de amostras de 10-100 mg foram suspensas em 2,5 mL de solução 1% de Triton X 100. As amostras de água foram acidificadas com HNO ₃ , Ga foi utilizado como padrão.	Cherkashina et al., 2014
Fluídos orais	Ti, Al e V	Amostras de salivas foram retiradas da boca dos pacientes e depositadas sobre o disco de quartzo, com o auxílio de um microcapilar (1 a 5 µL). O padrão interno foi adicionado por cima da amostra (Ga).	Abraham et al., 2014
Solos	Al, K, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, P, Ca, As, Rb, Y, Pr, Ta e Pb	Cerca de 50 mg de amostra foram misturados com 2,5 mL de solução 0,1% de Triton X-100 e sonicada em um banho ultrassônico por 15 min. Utilizaram Se como padrão interno.	Towett et al., 2013
Sedimentos de rio	As, Cu, Fe, Mn, Pb, Rb, Sr, Ti, V e Zn	10 mg de sedimentos pesados diretamente em frasco Eppendorf seguida da adição de 1 mL de solução 0,01% de Triton X-100, utilizaram Ge como padrão interno. As amostras foram submetidas à agitação por ultrassom durante 30 s, a sonda foi inserida diretamente no frasco da mistura.	Alvarez-Vázquez et al., 2014
Mel	K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Br e Sr	As amostras foram aquecidas em mufla a 550° C, seguidas da digestão com HCl. Gálio foi utilizado como padrão interno.	Ribeiro et al., 2014
Leite bovino	Pb	As amostras foram digeridas com HNO ₃ em forno de MW e pré-concentradas pelo procedimento da extração em ponto nuvem, utilizando DDTP como agente complexante e Triton X-114 como surfactante. Ga e Y foram avaliados como padrão interno.	Rocha, 2015

3.4 Objetivos

Geral

Desenvolver e avaliar um método para análise rápida de tortas de pinhão manso, girassol, nabo forrageiro, tremoço, mamona, colza, pequi e palma por TXRF.

Específico

Otimizar o procedimento de preparo da suspensão das amostras por meio de estratégias multi e univariadas.

Otimizar as variáveis tempo de aquisição de sinal analítico e tipo de padrão interno.

Avaliar o desempenho do método por meio das figuras de mérito: veracidade em termos de recuperação, precisão por meio do desvio padrão e seletividade.

Aplicar o método desenvolvido na determinação de constituintes inorgânicos em tortas de oleaginosas e comparar os resultados do TXRF com os do ICP OES.

3.5 Parte Experimental

3.5.1 Amostras e Materiais de Referência Certificado (CRM)

As etapas de desenvolvimento e otimização do método foram conduzidas com o material de referência certificado NIST 1570a – folhas de espinafre. A avaliação da precisão e veracidade foi realizada pela análise de quatro materiais certificados: NIST 1573a – folhas de tomate, NIST 1547 – folhas de pêssigo, NIST 1567a – farinha de trigo e CRM 029-50 – lodo de esgoto 2. Os materiais vegetais selecionados, apesar de não serem de oleaginosas, apresentam os macro e micronutrientes encontrados nas tortas analisadas. O CRM 029-50 apresenta alguns dos contaminantes previsto na legislação para fertilizantes.

As tortas de pinhão manso, girassol, nabo forrageiro, tremoço, mamona, colza, pequi e palma utilizadas neste estudo são as mesmas que foram analisadas por ICP OES.

3.5.2 Reagentes e Soluções

Os seguintes reagentes foram utilizados: solução padrão 1000 mg L⁻¹ de Ga, Y, Ni, As, Pb, Cd e Se (Fluka Analytical). HNO₃ 65% m m⁻¹ (Merck, Alemanha). Triton X 114 (Merck, Alemanha), detergente não iônico RBS (Sigma-Aldrich, EUA), acetona pura - C₃H₆O PA (Cromato Produtos Químicos), solução de silicone em isopropanol e água tipo I obtida em sistema Milli-Q[®] (18 Ω cm, Millipore, EUA).

3.5.3 Equipamentos e Acessórios

A pesagem das amostras foi realizada em balança analítica modelo AX 200 (Shimadzu do Brasil comércio LDTA, São Paulo, Brasil) com precisão de 0,0001 g. Um processador ultrassônico modelo VCX 550 (Sonics, Newtown, CT, EUA) operando com 500 watts e 20 kHz, com o acessório *cup horn* (Figura 3.7 a e b), tubos de propileno com capacidade para 5,0 mL (Figura 3.7 c) e um agitador vortex (Marconi, MA - 162) foram utilizados para o preparo da suspensão.

Micropipetas de volumes ajustáveis (1000-5000 μL, 200-1000 μL, 20-200 μL, 10-100 μL e 2- 20 μL) e discos de quartzo com 30 mm de diâmetro e espessura de 3.0 ± 0.1 mm (Bruker Nano GmbH, Alemanha) também foram utilizados. Uma estufa com circulação e renovação de ar (Tecnal, modelo TE – 394/L SP, Brasil) foi utilizada na etapa de limpeza dos discos de quartzo e secagem das amostras. Um sistema de vácuo composto por um dessecador e uma bomba de vácuo, operando a 22 mmHg (Millipore) foi empregado para secagem das amostras nos discos de

quartzo. Foi utilizada uma centrífuga modelo 206-BL (FANEN, Guarulhos, Brasil) e um agitador magnético (IKA, RH basic 1 S1) na etapa de extração de potássio.

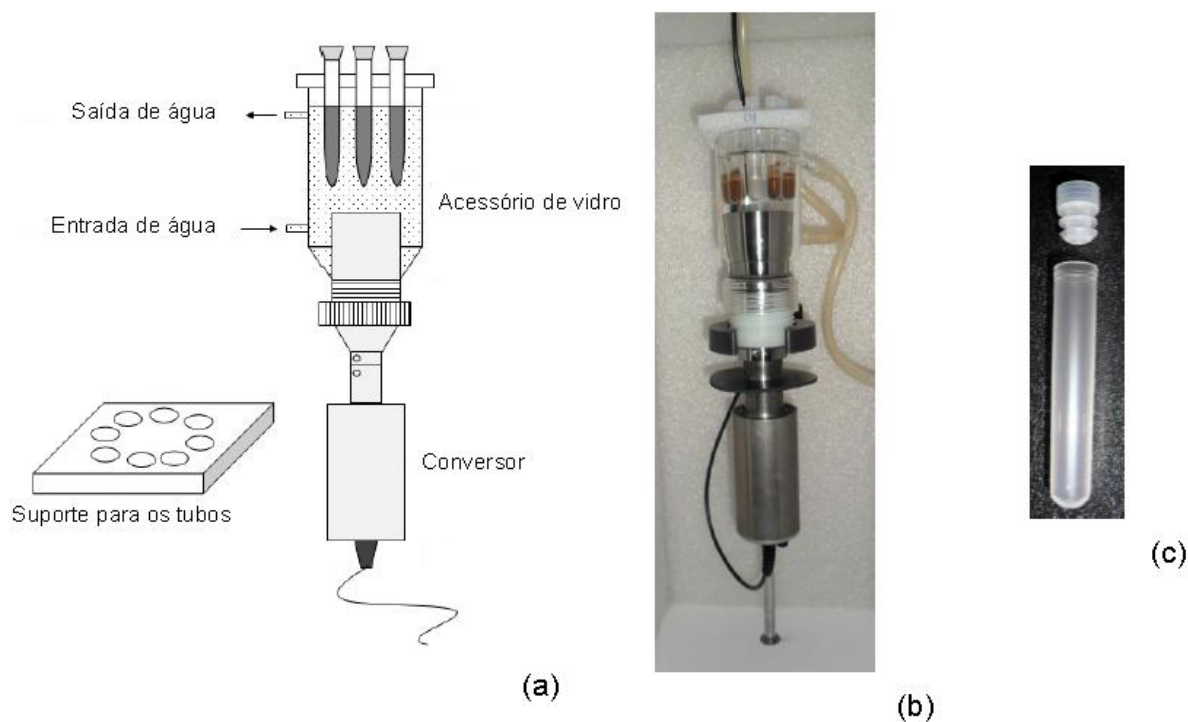


Figura 3.7. Sistema sonoreator do tipo *cup horn* empregado no procedimento de preparo da amostra: Esquema (a), fotografia (b) e (c) tubo de polipropileno com capacidade para 5,0 mL. Extraída de Teixeira, 2014.

As análises foram conduzidas utilizando um Espectrômetro de Fluorescência de raios – X por Reflexão total portátil S2 PICOFOX™ TXRF (Bruker Nano GmbH, Alemanha). O espectrômetro é equipado com tubo de MoK α (17,5 keV, 600 μ A, 50 kV, 50W), um monocromador *multi-layer* e um detector *silicon drift detector* – SDD com uma área ativa de 10 mm². O feixe de radiação incide sobre a amostra em uma superfície retangular de cerca de 7 x 0,1 mm². A resolução do detector é melhor que 160 eV a 10 kpcs (Mn K α).

O tratamento dos espectros de raios X foi realizado com o *software* SPECTRA version 7.0 (Bruker Nano GmbH, Germany).

3.5.4 Procedimento de Limpeza e Deposição da Amostra nos Discos de Quartzo

3.5.4.1 Limpeza dos Discos de Quartzo

A limpeza adequada dos discos de quartzo é uma exigência necessária para o sucesso das análises por TXRF, uma vez que, contaminações nos discos implicarão automaticamente em erros nas determinações elementares. Para tanto foi adotado o procedimento de limpeza, indicado pelo fabricante, sistematizado na Figura 3.8.



1) Limpou-se a superfície do disco com um lenço de papel absorvente sem fios, embebido em acetona.



2) Posicionou-se os discos no suporte.



3) O suporte contendo o disco foi imerso em um béquer contendo a solução de limpeza (5% RBS) e esta aquecida por 5 min, sem ebulição. Em seguida, enxaguados com água deionizada.



4) Os discos foram imersos em solução de HNO_3 10% e a solução aquecida durante 2h, sem ebulição, ou permaneceram no banho por 24 h sem aquecimento. Em seguida, foram enxaguados com água deionizada em abundância.



5) Os discos foram secos em estufa a $80\text{ }^\circ\text{C}$ por 30 minutos.



6) A superfície dos discos foi cuidadosamente limpa com um papel absorvente sem fios, embebido em acetona.



7) Adicionou-se 10 μL de solução de silicone em isopropanol no centro dos discos – a gota se espalha em um círculo de aproximadamente 20 mm de diâmetro.

8) Os discos foram secos à vácuo por 15 min – 22 mmHg.

9) Foram realizadas as medidas no TXRF (50 kv, 600 μA , 60s) para verificação de contaminação remanescente.

Figura 3.8. Descrição de procedimento para limpeza dos discos de quartzo utilizados como porta amostras. Fotos extraídas de Bruker, 2012.

3.5.4.2 Adição da Amostra no Disco de Quartzo

Em todos os procedimentos, após o preparo das suspensões, estas foram agitadas durante 10 segundos em vortex. Imediatamente em sequência, com uma micropipeta, foi retirada uma alíquota de 10 μL da suspensão e transferida para o centro do disco de quartzo, de forma a ocupar um raio máximo de 10 mm (Figura 3.9). Os discos com as amostras foram secos a vácuo durante 15 min e em seguida feitas as medidas no TXRF operando a 50 kV de voltagem e 600 μA de corrente.

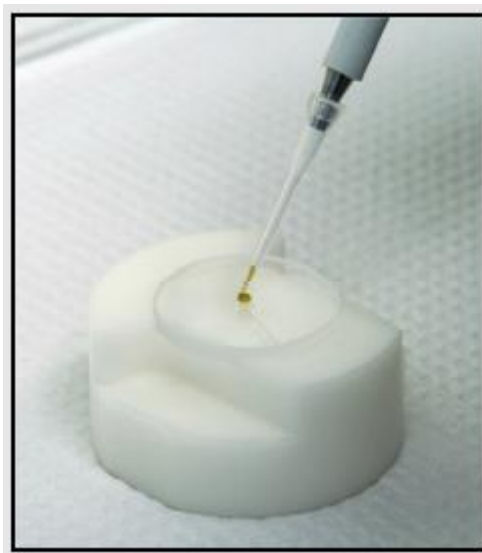


Figura 3.9. Suporte utilizado para orientação da adição de amostra no centro do disco de quartzo.

3.5.5 Otimização do Procedimento de Preparo da Suspensão

3.5.5.1 Otimização Multivariada - Planejamento Fatorial 2^3 com Triplicata no Ponto Central

Foi realizado um planejamento fatorial 2^3 com triplicata no ponto central para avaliar o efeito das variáveis: massa de amostra (10; 30; 50 mg), concentração de Triton X 114 (0,1; 0,55; 1,0% v v⁻¹) e tempo de ultrassom (4; 8; 12 min) na eficiência do preparo da suspensão. Este planejamento teve como objetivo avaliar a condição que resultasse em uma maior porcentagem de recuperação e menores limites de detecção (LD) dos elementos P, S, K, Ca, Mn, Ni, Cu, Zn e Rb certificados no material NIST 1570a – folhas de espinafre, quando determinados por TXRF. As condições de cada ensaio do planejamento são apresentadas na Tabela 3.2.

Os valores de porcentagem de recuperação e LD obtidos para os elementos avaliados na condição experimental gerada pelo planejamento foram usados para compor a matriz de dados. Para tanto foi adotada a equação de resposta múltipla (Equação 3.8) (Teixeira, 2014; Andrade, 2012; Lopes et al., 2009), com o compromisso de obter uma condição satisfatória que proporcionasse as maiores porcentagens de recuperações e menores LD para todos os elementos avaliados ou para a maioria deles.

Dentro do conjunto de respostas (sinal analítico) obtido para um determinado analito, identificou-se qual apresentou maior valor. Em seguida, efetuou-se a divisão de todas as respostas por este valor, de forma que uma resposta fosse igual a 1 e o restante menor que 1. Este procedimento foi realizado para cada analito individualmente. Efetuou-se o somatório das respostas normalizadas de cada analito dentro de um mesmo ensaio. Assim, a resposta múltipla referente a cada ensaio foi calculada a partir da equação 3.8:

$$RM_j = \frac{R(Ca)}{MR(Ca)} + \frac{R(Cd)}{MR(Cd)} + \dots + \frac{R(i)}{MR(i)} \quad (3.8)$$

Em que RM_j é a somatória das respostas normalizadas de cada analito dentro do ensaio j. $R(\text{analito})$ é o sinal analítico para o elemento no ensaio j e $MR(\text{analito})$ é a maior resposta encontrada para o elemento no conjunto dos experimentos realizados.

As respostas múltiplas calculadas foram processadas pelo software STATISTICA[®] versão 7.0 para obtenção das superfícies de respostas, usando nível de confiança de 95% assim como os efeitos e significância das variáveis

Tabela 3.2. Condição de cada ensaio do planejamento fatorial 2^3 com repetição no ponto central para o procedimento de preparo de amostra.

Variáveis	Níveis		
	-1 (Baixo)	0 (Médio)	+1 (Alto)
Massa CRM 1570a (mg)	10	30	50
Triton X 114 (% v v ⁻¹)	0,1	0,55	1
Tempo de US (min)	4	8	12

Ensaio	Massa (mg)	Triton X 114 (% v v ⁻¹)	Tempo (min)
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

Para este estudo, pesou-se, diretamente em frasco de polipropileno, as massas do CRM NIST 1570a e adicionou-se 2,5 mL de solução de Triton X 114, de acordo com condições de ensaio da Tabela 3.2. Em seguida, foram adicionadas alíquotas de 10, 30 ou 50 μL de solução padrão de Ga 100 mg L^{-1} , usado como padrão interno (PI), de forma que a concentração final fosse de 100 mg kg^{-1} em todas as amostras.

Os tubos foram submetidos à sonicação com uma amplitude de 50% e com um ciclo de 2 pulsos por um. Para evitar o aquecimento do sistema durante a sonicação, um fluxo de água a temperatura ambiente foi mantido durante todo o procedimento. As análises das amostras foram conduzidas no PICOFOX com o tempo de leitura de 1000 s para cada amostra.

3.5.5.2 Avaliação do Efeito da Massa de Amostra na Precisão das Medidas

Foi realizado um estudo univariado para avaliação das precisões e recuperações dos elementos avaliados no CRM NIST 1570a, variando a massa de amostra usada no preparo da suspensão.

Para tanto, pesou-se, diretamente em frascos de polipropileno, 5; 10; 20 e 30 mg de amostra; adicionou-se 2,5 mL de solução 0,1 % v v⁻¹ de Triton X 114; seguida da adição de alíquotas de 5; 10; 20 e 30 µL de solução padrão 100 mg L⁻¹ de Ga (PI), de forma que sua concentração na amostra seca fosse de 100 mg kg⁻¹. As amostras foram sonicadas nas mesmas condições descritas anteriormente por um período de 4 min. As análises foram conduzidas com o tempo de leitura de 1000 s para cada amostra. O procedimento foi realizado em triplicata.

3.5.6 Otimização das Condições de Análise no PICOFOX

3.5.6.1 Otimização do Padrão Interno (PI)

Foi realizado um estudo univariado para avaliação dos resultados de recuperação para os elementos certificados no CRM NIST 1570a utilizando Ga e Y como padrões internos.

Pesou-se 20 mg de amostra diretamente em frasco de polipropileno, adicionou-se 2,5 mL de solução 0,1 % v v⁻¹ de Triton X 114, 20 µL de solução 100 mg L⁻¹ de Ga e 20 µL de solução 100 mg L⁻¹ de Y – concentração na amostra seca de 100 mg kg⁻¹ para ambos PI. As amostras foram sonicadas por um período de 4 min, depositadas e secas no porta amostras e analisadas com um tempo de leitura de 1000 s. O procedimento foi realizado em triplicata.

Os resultados de recuperação obtidos foram comparados por meio do teste F e t-Student para variâncias combinadas ou distintas a um nível de 95% de confiança.

3.5.6.2 Procedimento para Avaliação do Tempo de Medida (tempo de aquisição do sinal)

O tempo de medida foi avaliado em 250; 500; 750 e 1000 s usando Ga como PI. Utilizou-se a amostra preparada no subitem 3.5.6.1 para esse estudo.

3.5.7 Avaliação de Desempenho do Método

3.5.7.1 Seletividade

A avaliação da seletividade foi feita apenas para os contaminantes previstos pela legislação em fertilizantes orgânicos, de acordo com a instrução normativa do MAPA (Brasil, 2006).

Desta forma, fortificou-se tortas de pequi, tremoço e nabo forrageiro com Se, As, Pb, Cr, Ni e Cd de acordo com o procedimento abaixo.

Pesou-se 10 gramas das tortas separadamente em placas de petri. Adicionou-se 200 μL de solução 1000 mg L^{-1} de As, 1,5 mL de solução 1000 mg L^{-1} de Pb, 2,5 mL de solução 1000 mg L^{-1} de Cr, 700 μL de solução 1000 mg L^{-1} de Ni, 800 μL de solução 1000 mg L^{-1} de Se e 30 μL de solução 1000 mg L^{-1} de Cd, de forma que a concentração final dos elementos nas tortas fosse de 20; 150; 200; 70; 80 e 3 mg kg^{-1} , respectivamente. Esses são os valores máximos permitidos para contaminantes em material vegetal a ser usado como fertilizante orgânico (Brasil, 2006).

As amostras fortificadas foram secas em estufa a 50° C por 12 horas. Após resfriamento, foram maceradas e homogeneizadas com um pistilo em graal de ágata.

Pesou-se 20 mg dessas amostras em frasco de polipropileno, adicionou-se 2,5 mL de solução 0,1 % $v v^{-1}$ de Triton X 114, 20 μL de solução 100 mg L^{-1} de Ga, sonicou durante 4 min, procedeu-se o preparo dos discos e análise das amostras por 250 s. O procedimento foi realizado em triplicata.

3.5.7.2 Procedimento para Extração de Potássio para Quantificação de Cádmi

Devido à interferência do pico de emissão de $\text{KK}\alpha$ (3,313 keV) na linha do $\text{CdL}\alpha$ (3,126 keV), avaliou-se a possibilidade de remover o potássio da amostra por extração, para posterior quantificação de cádmio. Assim, pesou-se, diretamente em tubo Falcon de 50 mL, 25 mg de CRM NIST 1570a, adicionou-se 10 mL de água deionizada e agitou-se por 30 min em agitador magnético, centrifugou-se por 2 minutos – 3500 rpm. Retirou-se o sobrenadante e adicionou-se mais 10 mL de água deionizada e repetiu o procedimento anterior. Após a retirada do sobrenadante, adicionou-se 2,5 mL de solução 0,1 % $v v^{-1}$ de Triton X 114, 25 μL de solução 100 mg L^{-1} de Ga e sonicou durante 4 min. A suspensão foi então depositada no porta amostra, seca e analisada no PICOFOX com um tempo de aquisição de sinal de 250 s.

3.5.7.3 Veracidade e Precisão

A veracidade e a precisão do método foram avaliadas a partir da análise de quatro materiais de referência certificados: NIST 1573a – folhas de tomate, NIST 1547 – folhas de pêssgo, NIST 1567a – farinha de trigo e CRM 029-50 – lodo de esgoto 2, realizada em três repetições independentes.

A precisão foi estimada em termos de repetitividade e determinada pelo desvio padrão relativo (DPR). A veracidade foi determinada em termos da recuperação do analito presente nos materiais certificados avaliados.

Para a análise, pesou-se 20 mg das amostras em frasco de polipropileno, adicionou-se 2,5 mL de solução 0,1 % v v⁻¹ de Triton X 114, 20 µL de solução 100 mg L⁻¹ de Ga, sonicou durante 4 min e procedeu a leitura da amostra por 250 s. Apenas para o CRM 029-50 lodo de esgoto, adicionou-se 200 µL de HNO₃ 50% v v⁻¹ sobre a amostra após a pesagem, por se tratar de uma matriz mais complexa.

3.5.8 Aplicação do Método Otimizado na Análise das Tortas

Após otimização e validação do método, realizou-se a análise das tortas de mamona, pinhão manso, girassol, colza, nabo forrageiro, palma, tremoço e pequi. Para isto, pesou-se 20 mg das tortas em frasco de polipropileno, adicionou-se 2,5 mL de solução 0,1 % vv⁻¹ de Triton X 114, 20 µL de solução 100 mg L⁻¹ de Ga, sonicou durante 4 min e procedeu a leitura das amostras por 250 s. O procedimento foi realizado em triplicata. Os resultados obtidos foram comparados com as determinações por ICP OES por meio do teste F e t-Student para variâncias combinadas ou distintas a um nível de 95% de confiança. O valor de t calculado < t crítico indica que os valores médios são estatisticamente iguais.

3.6 Resultados

3.6.1 Otimização do Procedimento de Preparo da Suspensão

3.6.1.1 Planejamento Fatorial 2^3 com Triplicata no Ponto Central

O efeito das variáveis: massa de amostra (10; 30 e 50 mg), concentração de Triton X 114 (0,1; 0,55 e 1,0% v v⁻¹) e tempo de sonicação em sonoreator do tipo *cup horn* (4; 8 e 12 min) sobre o procedimento de preparo da amostra foram avaliados por meio de um planejamento fatorial 2^3 com ponto central. Na Tabela 3.3 são apresentados os resultados de recuperação dos elementos P, S, K, Ca, Mn, Ni, Cu, Zn e Rb certificados no CRM NIST 1570a e na Tabela 3.4 são apresentados os dados normalizados a partir dos quais se estudou o efeito das variáveis.

Tabela 3.3 Resultado do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para estudar o efeito da massa de amostra, concentração de Triton X 114 e tempo de sonicação sobre a porcentagem de recuperação dos elementos certificados no CRM NIST 1570a.

Ensaio	Variáveis			Recuperação (%)								
	Massa Amostra (mg)	Triton X 114 (% v v ⁻¹)	Tempo Ultrassom (min)	P	S	K	Ca	Mn	Ni	Cu	Zn	Rb
1	10	0,1	4	96	104	94	116	104	86	113	104	78
2	50	0,1	4	62	63	81	69	86	92	86	86	73
3	10	1	4	86	87	92	95	95	81	93	95	75
4	50	1	4	66	75	86	89	98	111	97	99	76
5	10	0,1	12	84	86	88	96	91	75	95	91	71
6	50	0,1	12	70	71	88	78	91	103	93	92	76
7	10	1	12	82	83	89	94	94	81	106	92	72
8	50	1	12	68	72	90	77	91	95	94	95	80
9	30	0,55	8	77	83	88	92	93	86	98	91	76
10	30	0,55	8	78	85	88	93	98	101	101	97	75
11	30	0,55	8	77	85	87	95	99	97	97	96	75

Tabela 3.4 Dados normalizados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para estudar o efeito da massa de amostra, concentração de Triton X 114 e tempo de sonicação sobre a porcentagem de recuperação dos elementos certificados no CRM NIST 1570a.

Ensaio	P	S	K	Ca	Mn	Ni	Cu	Zn	Rb	Resposta Múltipla
1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,777	1,000	1,000	0,979	8,756
2	0,647	0,605	0,870	0,593	0,822	0,827	0,764	0,826	0,916	6,871
3	0,901	0,833	0,985	0,818	0,917	0,734	0,823	0,911	0,943	7,864
4	0,684	0,720	0,921	0,766	0,940	1,000	0,856	0,947	0,950	7,784
5	0,879	0,827	0,938	0,825	0,872	0,675	0,837	0,870	0,891	7,614
6	0,733	0,681	0,941	0,667	0,878	0,933	0,823	0,879	0,954	7,490
7	0,854	0,797	0,955	0,805	0,907	0,729	0,937	0,884	0,907	7,774
8	0,705	0,690	0,961	0,663	0,878	0,855	0,831	0,914	1,000	7,498
9	0,806	0,795	0,937	0,788	0,897	0,776	0,866	0,875	0,953	7,694
10	0,806	0,813	0,930	0,821	0,952	0,876	0,857	0,917	0,941	7,913
11	0,817	0,810	0,938	0,799	0,943	0,915	0,897	0,929	0,949	7,998

O gráfico de Pareto (Figura 3.10), construído com as respostas múltiplas de recuperação, indica que a massa de amostra apresentou efeito significativo e negativo no preparo da suspensão, ou seja, quando a massa é aumentada de 10 para 50 mg, há uma diminuição na porcentagem de recuperação. Esta diminuição foi mais pronunciada para os elementos P, S e Ca, como pode ser observado na Tabela 3.3.

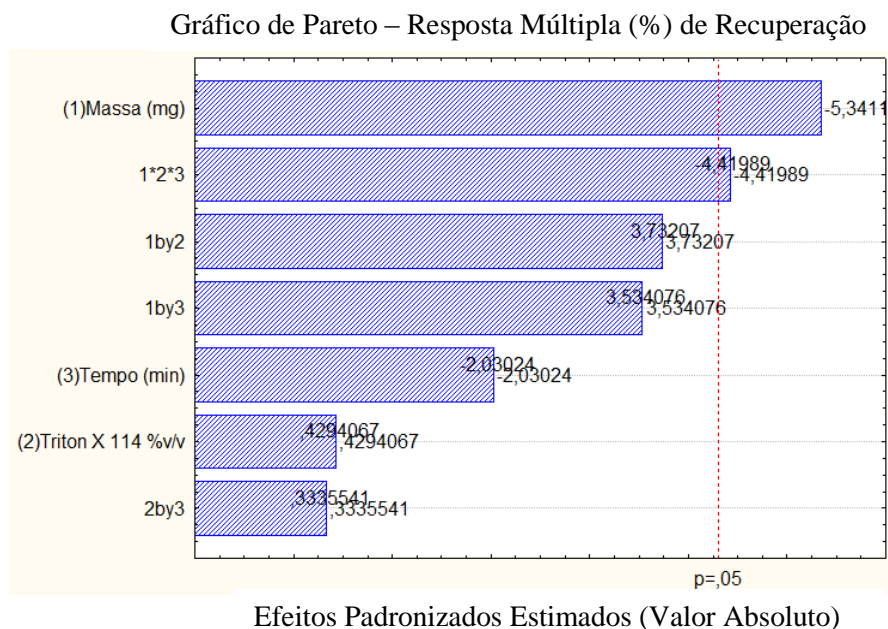


Figura 3.10. Gráfico de Pareto com as respostas múltiplas de porcentagem de recuperação do planejamento fatorial 2^3 com ponto central.

Comportamento semelhante foi observado por Cherkashina e colaboradores (2014) no preparo de suspensão de material de referência de rocha RM jG-2 usando Triton X 100 como dispersante. As massas de amostras foram variadas em 10; 20; 50 e 100 mg. O aumento da massa de amostra permitiu melhorar os LD dos elementos investigados em 3-5 vezes. Entretanto, os autores observaram que massas de amostras maiores que 50 mg demonstraram efeito de auto absorção da radiação fluorescente pela própria amostra no intervalo de baixas energias no espectro ($Z < 20$) e as recuperações para K e Ca pioraram. As recuperações para Sr, Ba e Pb levemente dependeram da massa de amostra e foram aproximadamente iguais a 100%.

De La Calle e colaboradores (2013) destacaram que desvios da relação linear entre concentração do elemento na amostra e a intensidade dos raios X fluorescentes podem ser observados quando grande quantidade de massa de amostra é analisada (efeito de saturação), dependendo do elemento e da matriz da amostra. O efeito de saturação é devido à absorção da radiação primária e auto absorção da radiação fluorescente o que leva a grandes erros estatísticos. De acordo com os autores, com grandes quantidades de amostra, a alta produção de fluorescência pode saturar o detector e, portanto, causar dificuldades para discriminação das energias.

Na Figura 3.11 são apresentados os gráficos de intensidade da radiação fluorescente para os elementos P, S, K, Ca, Mn, Ni, Cu, Zn e Rb em função da massa de amostra usada no preparo da suspensão. De fato, parece haver uma tendência de desvio da relação linear entre massa de amostra e intensidade da radiação fluorescente com o aumento da massa, acentuadamente para massas de 50 mg, exceto para K, Rb e Ni. Esse fator pode ter contribuído para a diminuição das recuperações com o aumento da massa suspensa, observadas para a maioria dos analitos avaliados.

Os demais fatores (tempo de ultrassom e concentração de Triton X 114) não apresentaram influência significativa na porcentagem de recuperação dos analitos no domínio experimental investigado. Entretanto, observou-se interação negativa de terceira ordem dos fatores (1*2*3) (Figura 3.10). Na Figura 3.12 é apresentado o diagrama do planejamento mostrando as interações entre as variáveis estudadas. Pode-se observar que estas em seus níveis mais baixos (10 mg de amostra; 0,1 % $v v^{-1}$ de Triton X 114 e 4 min de ultrassom) apresentaram a maior resposta múltipla (8,8) o que na Tabela 3.4 corresponde ao ensaio de número um.

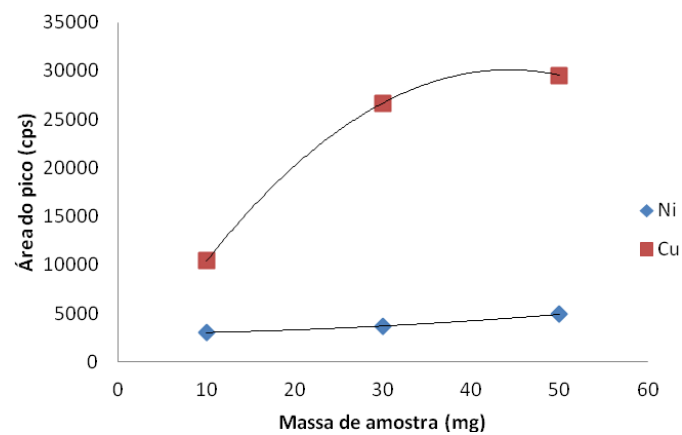
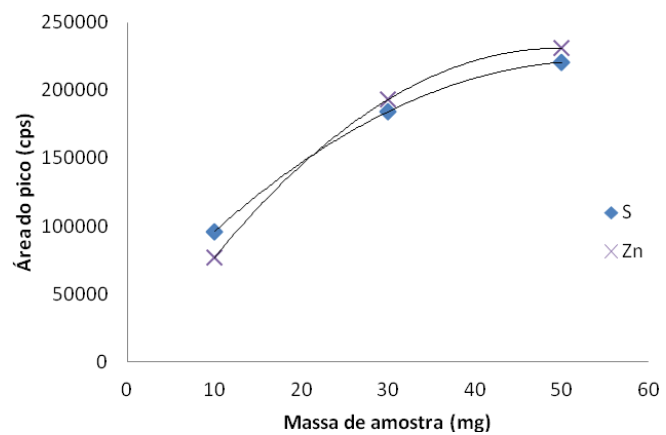
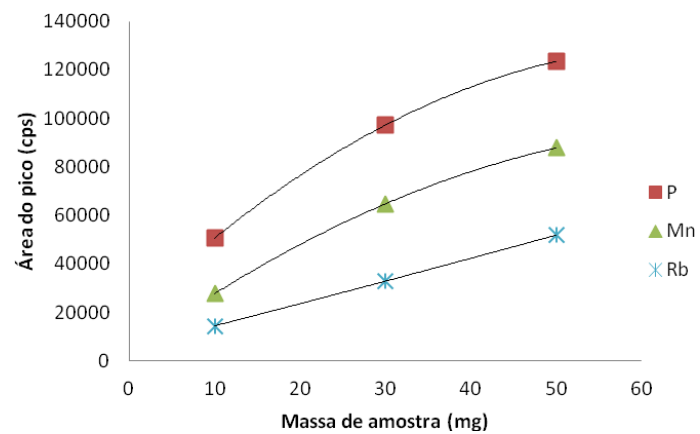
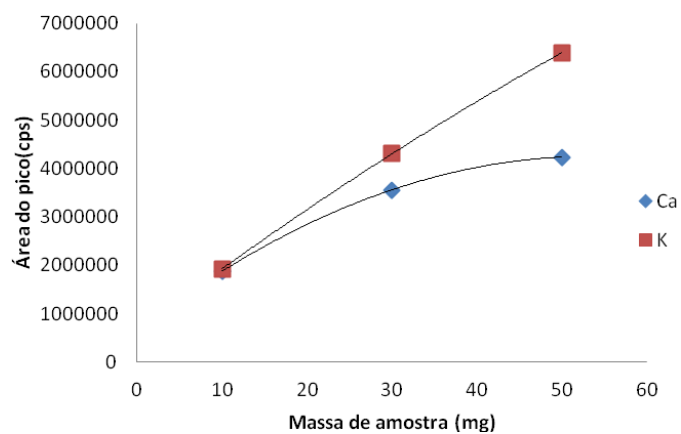


Figura 3.11. Intensidade fluorescente de Ca, K, P, Mn, Rb, S, Zn, Ni e Cu em função da massa de amostra suspensa em 2,5 mL de solução 0,1 %v v⁻¹ de Triton X 114 (massas de 10 e 50 mg) e 0,55 %v v⁻¹ de Triton X 114 (massa de 30 mg).

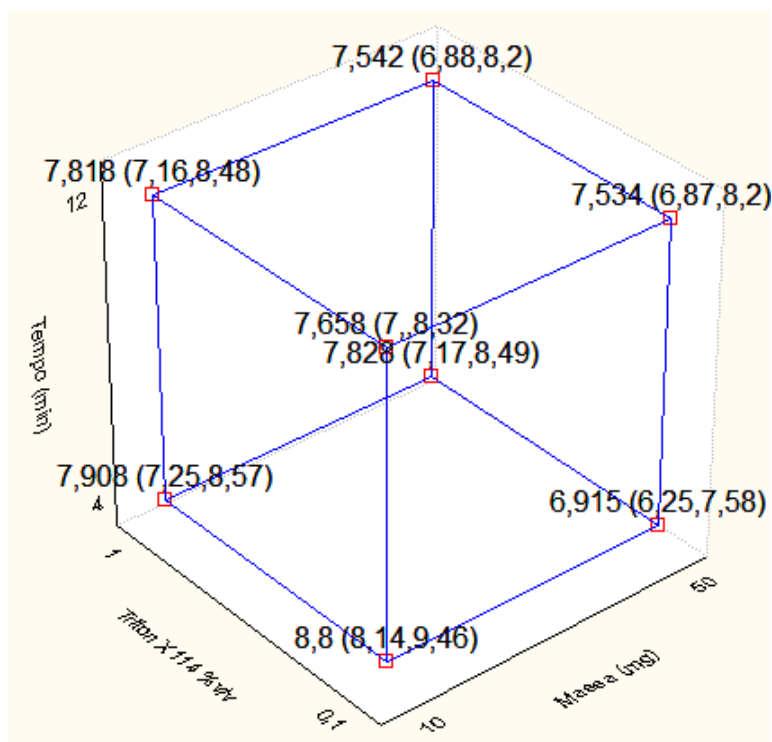


Figura 3.12. Diagrama do planejamento fatorial 2^3 com ponto central mostrando as interações entre as variáveis: massa de amostra, tempo de ultrassom e concentração de Triton X 114 na recuperação dos analitos.

Na Tabela 3.5 são apresentados os limites de detecção dos analitos obtidos a partir do planejamento e na Tabela 3.6 os dados normalizados que foram utilizados para se estudar o efeito das variáveis sobre o preparo da amostra. Os LD foram calculados pelo *software* SPECTRA 7.0 de acordo com a Equação 3.6:

$$LD_i = \frac{3 \cdot C_i \sqrt{I_{BG}}}{I_i} \quad (3.6)$$

O gráfico de Pareto (Figura 3.13) indica efeito significativo negativo da massa de amostra nos LD dos elementos, quando a massa é aumentada de 10 para 50 mg os LD são diminuídos. O limite de detecção é inversamente proporcional à intensidade da radiação fluorescente - I_i (Equação 3.6), como maiores massas de amostras proporcionam maiores sinais de radiação fluorescentes, logo, tem-se menores LD. O gráfico de Pareto (Figura 3.13) também evidencia efeito significativo positivo da concentração de Triton X 114 nos LD dos elementos avaliados. Há um aumento desses com o aumento da concentração de 0,1 para 1 % v⁻¹.

Tabela 3.5 Resultado do planejamento fatorial 2³ com ponto central para estudar o efeito da massa de amostra, concentração de Triton X 114 e tempo de sonicação sobre o LD dos elementos certificados no CRM NIST 1570a.

Ensaio	Variáveis			LD (mg kg ⁻¹)								
	Massa Amostra (mg)	Triton X 114 (% vv ⁻¹)	Tempo Ultrassom (min)	P	S	K	Ca	Mn	Ni	Cu	Zn	Rb
1	10	0,1	4	55,5	29,3	8,9	4,5	0,8	0,5	0,4	0,3	0,4
2	50	0,1	4	32,4	18,5	4,0	3,0	0,4	0,2	0,2	0,2	0,1
3	10	1	4	62,4	34,8	8,7	5,4	1,1	0,7	0,5	0,4	0,5
4	50	1	4	35,6	17,8	4,3	2,6	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2
5	10	0,1	12	58,7	32,9	8,8	5,1	0,8	0,6	0,4	0,4	0,4
6	50	0,1	12	28,4	16,2	3,6	2,6	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1
7	10	1	12	66,1	36,6	9,0	5,5	1,1	0,7	0,5	0,5	0,5
8	50	1	12	34,9	18,8	4,1	3,1	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2
9	30	0,55	8	38,4	20,6	5,3	3,2	0,5	0,3	0,2	0,2	0,2
10	30	0,55	8	36,2	19,1	5,0	2,9	0,5	0,3	0,2	0,2	0,2
11	30	0,55	8	38,3	20,4	5,3	3,2	0,5	0,3	0,2	0,2	0,2

Tabela 3.6. Dados normalizados do planejamento fatorial 2³ com ponto central para estudar o efeito da massa de amostra, concentração de Triton X 114 e tempo de sonicação sobre o LD dos elementos certificados no CRM NIST 1570a.

Ensaio	P	S	K	Ca	Mn	Ni	Cu	Zn	Rb	Resposta Múltipla
1	0,840	0,802	0,984	0,821	0,747	0,754	0,747	0,702	0,716	7,113
2	0,490	0,504	0,442	0,543	0,351	0,275	0,385	0,339	0,300	3,628
3	0,944	0,952	0,964	0,978	1,000	1,000	1,000	0,884	0,963	8,685
4	0,539	0,487	0,474	0,483	0,376	0,282	0,419	0,356	0,372	3,787
5	0,888	0,901	0,975	0,921	0,795	0,810	0,839	0,762	0,729	7,619
6	0,429	0,443	0,400	0,476	0,319	0,236	0,341	0,303	0,281	3,227
7	1,000	1,000	1,000	1,000	0,991	0,994	0,999	1,000	1,000	8,984
8	0,528	0,513	0,457	0,556	0,401	0,324	0,426	0,368	0,345	3,918
9	0,581	0,562	0,585	0,585	0,483	0,444	0,512	0,478	0,459	4,691
10	0,580	0,557	0,591	0,582	0,464	0,374	0,489	0,449	0,449	4,536
11	0,548	0,522	0,558	0,524	0,431	0,374	0,490	0,428	0,417	4,291

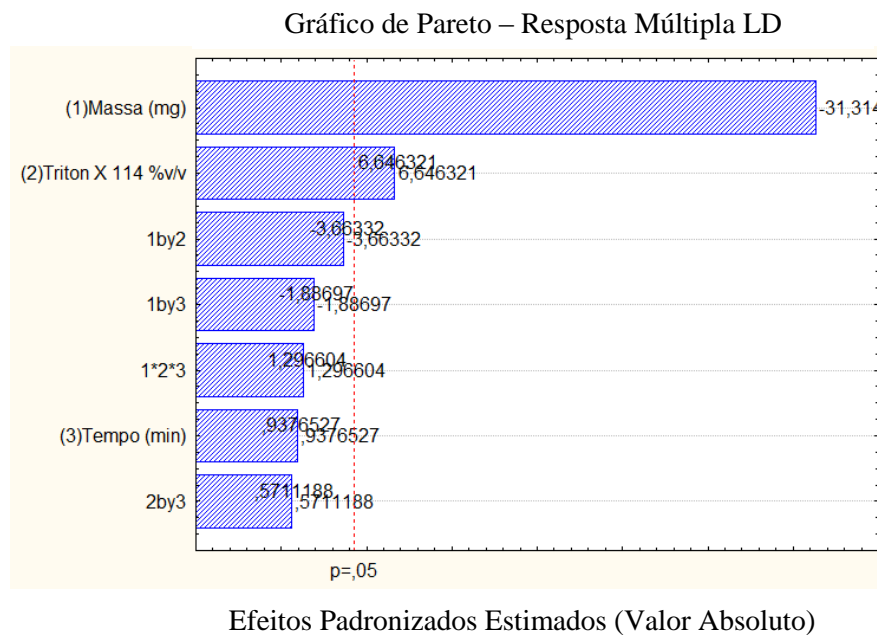


Figura 3.13. Gráfico de Pareto com as respostas múltiplas obtidas a partir do LD no planejamento fatorial 2^3 com ponto central.

O limite de detecção é diretamente proporcional à raiz quadrada da intensidade da radiação de fundo (I_{BG}) (Equação 3.6), portanto, maiores valores de radiação de fundo resultarão em maiores LD. Os sinais de radiação de fundo obtidos para os ensaios realizados com 10 mg e 50 mg de amostras suspensas em 0,1 e 1 % v v⁻¹ de Triton X 114 são apresentados na Figura 3.14, na qual pode-se observar o aumento da radiação de fundo com o aumento da concentração do dispersante e conseqüentemente o aumento do LD.

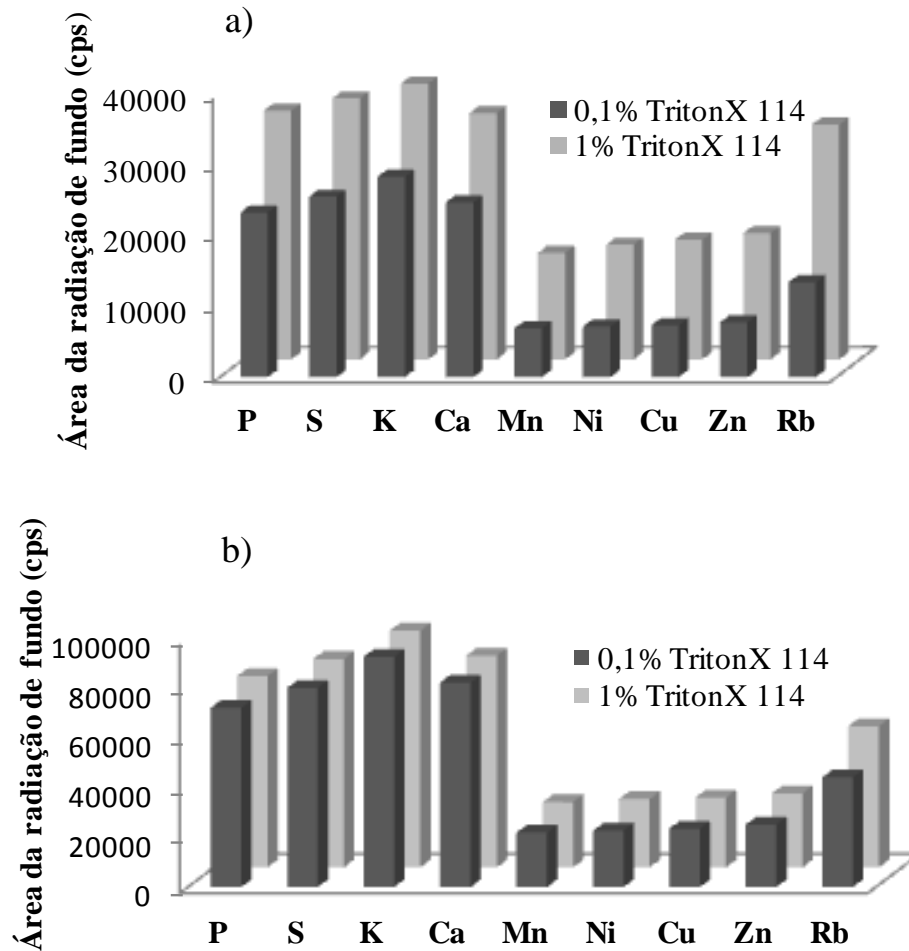


Figura 3.14. Efeito da concentração de Triton X 114 na radiação de fundo: a) 10 mg de amostra suspensa em 2,5 mL de dispersante; b) 50 mg de amostra suspensa em 2,5 mL de dispersante.

Os LD obtidos para K, Ca, Mn, Ni, Cu e Zn são adequados para a análise de fertilizantes orgânicos, visto que atendem ao limite máximo de contaminantes (Ni) e mínimos de nutrientes permitidos pela legislação. Além do mais, a estabilização e homogeneização das suspensões foram similares com 0,1 e 1% v v⁻¹ de dispersante, independente do tempo de sonicação. Desta forma, pode-se utilizar a concentração de Triton X 114 na faixa de 0,1-1% que os resultados serão satisfatórios para este estudo. Na Figura 3.15 são apresentadas as fotos das suspensões e na Figura 3.16 os discos de quartzos com a fina camada de amostra depositada.

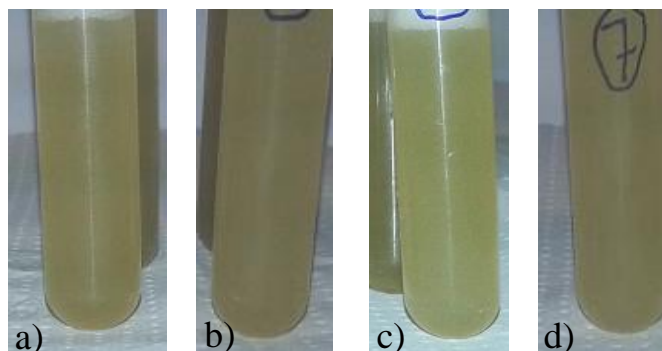


Figura 3.15. Fotografias das suspensões preparadas com 10 mg de NIST 1570a: 0,1% Triton X 114 com 4 min de sonicação (a) e com 12 min (b); 1% Triton X 114 com 4 min de sonicação (c) e com 12 min (d).

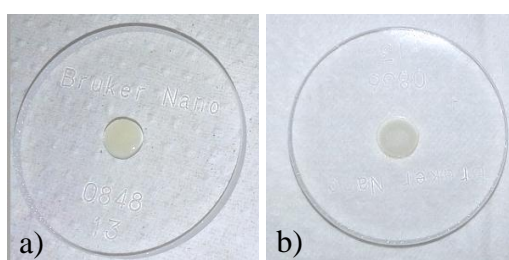


Figura 3.16. Disco de quartzo com a suspensão de CRM NIST 1570a (a) antes da secagem; (b) após secagem.

Alvarez-Vázquez e colaboradores (2014) utilizaram um processador ultrassônico equipado com sonda de titânio de 2 mm para o procedimento de homogeneização de suspensão do material certificado de sedimento marinho CRM 2702. A sonda foi inserida diretamente no frasco da amostra. Dentre as variáveis avaliadas, os autores estudaram a amplitude de sonicação (10; 20; 30; 40; 50 e 70%) em um período de 30 segundos (variáveis fixas: 0,01% v v⁻¹ Triton X 100, 10 mg de amostra) e o tempo de sonicação (15; 30; 45 e 60 segundos – empregando 30% de amplitude). Amostras submetidas a 10% de amplitude de sonicação não produziram suspensões homogêneas, enquanto que 50 e 70% apresentaram formação de espumas e salpicos. Os resultados mais precisos foram alcançados com 30% de amplitude de sonicação. Em relação ao tempo de sonicação, os resultados de recuperação foram próximos a 100% para todos os casos avaliados.

O tempo de sonicação empregado neste trabalho não mostrou efeito significativo sobre o preparo da suspensão do CRM NIST 1570a em relação à porcentagem de recuperação (Figura 3.10). Condições mais brandas como menores tempo de sonicação e amplitude poderiam ser utilizadas.

Contudo, optou-se por trabalhar com condições mais drásticas que as empregadas no trabalho de Alvarez-Vázquez et al. (2014) visto que estas podem contribuir para a extração dos analitos para a fase líquida, o que pode ser útil na obtenção de resultados mais reprodutíveis (Teixeira, 2014).

Em suma, as variáveis em seus níveis mais baixos proporcionaram melhores resultados de recuperação; maiores massas e menores concentrações de Triton X 114 proporcionaram melhores LD e o tempo de ultrassom não influenciou significativamente na recuperação nem no LD dos elementos avaliados.

3.6.1.2 Avaliação do Efeito da Massa na Precisão das Medidas

O planejamento fatorial forneceu um indicativo de que os fatores em seus níveis mais baixos proporcionaram melhores resultados de recuperação, entretanto não forneceu uma estimativa da precisão das medidas. Para tanto, foi realizado um estudo da variação de massa (5; 10; 20 e 30 mg) mantendo-se fixos os demais fatores em seus níveis mais baixos (0,1% v v⁻¹ Triton X 114, 4 min de sonicação) a fim de se avaliar em qual situação se obtém melhores precisões das medidas e maiores recuperações.

Todas as suspensões apresentaram distribuição homogênea das partículas e ausência de sólidos não fragmentados. Como pode ser observado na Figura 3.17, a recuperação obtida para os elementos P, S, K, Ca, Mn, Ni, Cu, Zn e Rb não depende significativamente da massa de amostra, no domínio experimental estudado. A porcentagem de recuperação variou de 85 – 109%, exceto para Rb que apresentou recuperações no intervalo de 67,5 – 78%. A determinação de Rb em disco de quartzo é limitada, pois a sua linha de emissão $L\alpha$ (1,691 keV) sofre interferência da linha $K\alpha$ de Si (1,739 keV), e também da linha $L\alpha$ de Sr (1,804) presente no CRM, o que justifica as baixas recuperações observadas. Na Figura 3.18 é apresentado o fragmento do espectro do CRM NIST 1570a em destaque os picos fluorescentes de Rb, Si e Sr e as linhas indicando as posições de cada elemento. Para os demais analitos, as melhores recuperações foram observadas quando se empregou 5 mg de amostra, entretanto os desvios padrões associados as medidas foram os mais elevados, variações de 3,8% para Cu a 16% para Ni, faixa aceitável de 3 – 11% (Taverniers, 2004).

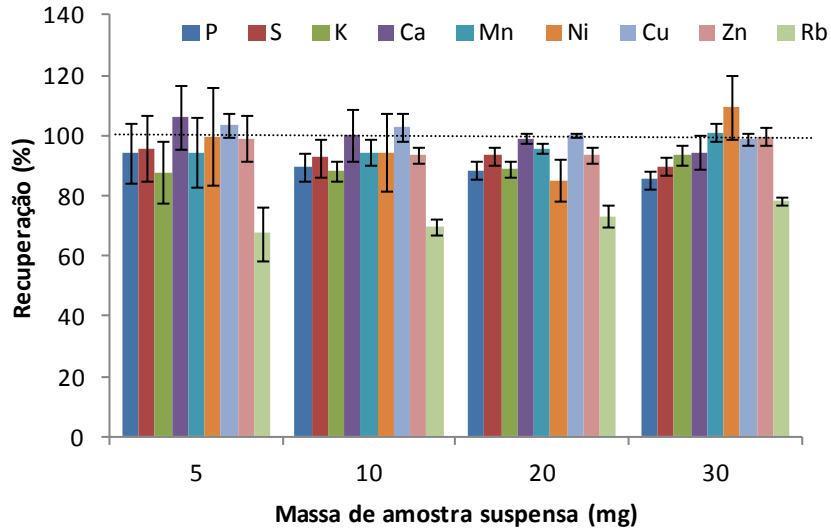


Figura 3.17. Efeito da variação de massa no preparo de suspensão de CRM NIST 1570a. As barras de erros representam o desvio padrão de três replicatas independentes.

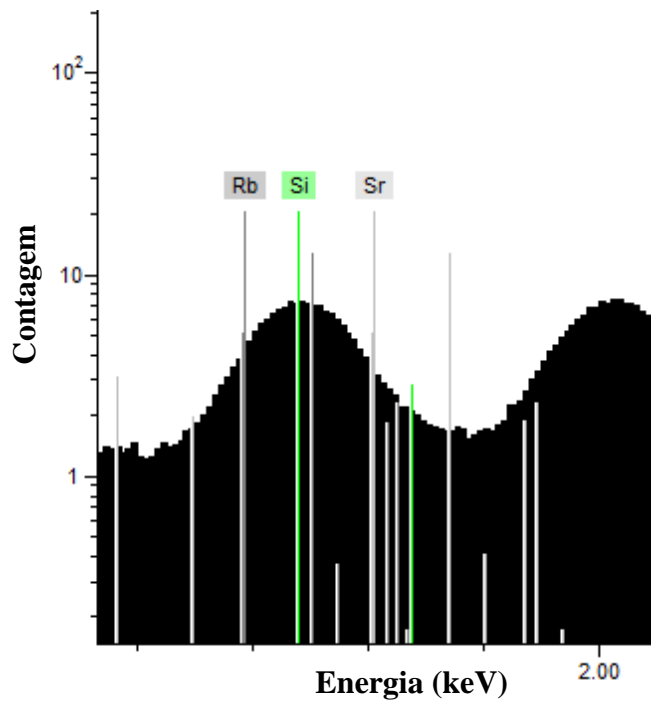


Figura 3.18. Fragmento de espectro de raios X de CRM NIST 1570a mostrando as linhas de emissão de Rb $L\alpha$ (1,691 keV), Si $K\alpha$ (1,739 keV) e Sr $L\alpha$ (1,804 keV).

Observa-se, ainda, que os desvios padrões associados às determinações de Ni estão fora da faixa aceitável para os testes com 5 mg de amostra (DPR = 16%) e com 10 mg (DPR = 13,5%) (para o nível de concentração avaliado, 2,142 mg kg⁻¹, o DPR aceitável é de 11% - Taverniers, 2004).

Dentre os demais ensaios, os melhores resultados de recuperações (88 – 100%) e menores desvios padrões (0,8 – 4,7%) foram obtidos com 20 mg de amostra.

Na Figura 3.19 são apresentados os LD dos elementos cujos valores são certificados e os que não são certificados no CRM NIST 1570a. Pode-se observar que os valores dos LD são diminuídos significativamente com o aumento da massa de amostra suspensa, como mencionado anteriormente. Para os elementos investigados, os seus respectivos LD são adequados para a proposta do trabalho, independente da massa de amostra analisada. Desta forma, escolheu-se trabalhar com massas de amostras de 20 mg e considerou-se otimizada a etapa de preparo da amostra.

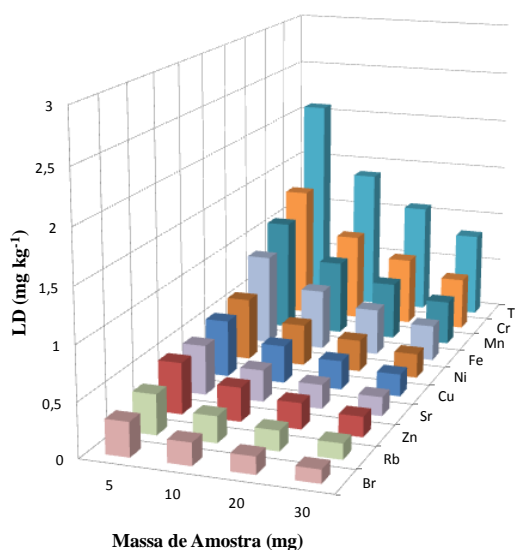
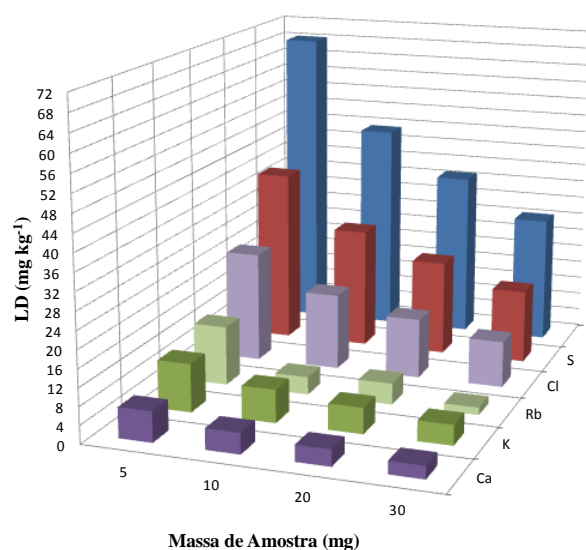


Figura 3.19. Efeito da massa de amostra de CRM NIST 1570a no LD de Ca, K, Rb, Cl, S, P, Br, Rb, Zn, Sr, Cu, Ni, Fe, Mn, Cr e Ti.

3.6.2 Otimização das Condições de Análise no PICOFOX

3.6.2.1 Avaliação do Padrão Interno

Para a padronização interna, uma quantidade definida de solução padrão monoelementar é adicionada à amostra. Normalmente, a concentração final de PI na amostra deve ser próxima a dos elementos a serem determinados. Neste estudo, escolheu-se trabalhar com concentração final do PI na amostra seca de 100 mg kg^{-1} , uma vez que as amostras apresentam composição variada de seus analitos.

A escolha do elemento a ser utilizado como PI depende da composição da amostra. É importante que esse não esteja presente em sua constituição, adicionalmente, deve ser evitada que as linhas fluorescentes do PI interfiram com as dos elementos de interesse. Neste sentido, avaliou-se a influência de Gálio e Ítrio como padrões internos nas porcentagens de recuperações de P, S, K, Ca, Mn, Ni, Cu, Zn e Rb no CRM NIST 1570a. Na Figura 3.20 é apresentado um fragmento de espectro de raios X de CRM NIST 1570a indicando os picos de emissões de Ga $K\alpha$ (9,250 keV) e Y $K\alpha$ (14,958 keV).

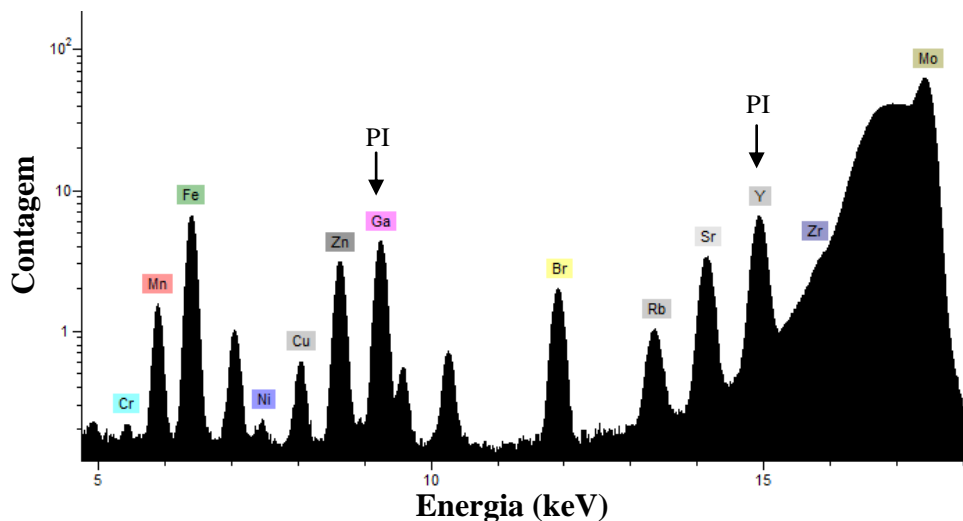


Figura 3.20. Fragmento de espectro de raios X de CRM NIST 1570a, em destaque os padrões internos Ga e Y.

Como pode ser observado (Tabela 3.7) houve diferença significativa entre os valores de recuperações obtidos utilizando Ga e Y como PI para a maioria dos analitos, exceto para Ca e Ni. O valor de t experimental foi maior que t crítico (2,78) no nível de confiança de 95%, $n=4$, em uma distribuição de Student bicaudal. Como as recuperações obtidas a partir do uso de Ga como PI mostraram valores de recuperações superiores, este foi escolhido para as demais análises.

Tabela 3.7. Resultados experimentais da porcentagem de recuperação dos elementos no CRM NIST 1570a empregando Ga e Y como PI e valor de t calculado pelo teste t de Student (t Tabelado para n = 4, $\alpha = 0,05$ é 2,78). Média \pm desvio padrão.

Elemento	Recuperação (%)		Valor de t-calculado
	Ga (100 mg kg ⁻¹)	Y (100 mg kg ⁻¹)	
P	96,0 \pm 2,6	86,0 \pm 0,7	6,3
S	95,0 \pm 3,2	85,0 \pm 1,3	4,8
K	86,0 \pm 1,8	78,0 \pm 3,1	4,2
Ca	109 \pm 7	98,0 \pm 4,4	2,3
Mn	97,0 \pm 1,9	87,0 \pm 3,1	4,6
Ni	115 \pm 23	103 \pm 19	0,7
Cu	101 \pm 1	91,0 \pm 1,6	8,8
Zn	93,0 \pm 2,7	84,0 \pm 4,0	3,3
Rb	86,0 \pm 2,6	78,0 \pm 3,5	3,4

3.6.2.2 Avaliação do Tempo Efetivo de Medida (tempo de integração do sinal)

O tempo efetivo de medida ou tempo de integração do sinal foi avaliado em 250; 500; 750 e 1000 s, usando Ga como PI. O limite de detecção, dentre outros fatores, é afetado pelo tempo de medida das amostras. De acordo com a Equação 3.7, o LD é inversamente proporcional à raiz quadrada do tempo de medida. Maiores tempo de medidas resultam em menores LD. Não existe uma regra geral para escolha deste, assim, em muitos casos testes devem ser conduzidos para avaliação do LD e para otimização do tempo. A Tabela 3.8 apresenta os resultados de LD obtidos para as quatro condições experimentais estudadas.

Como esperado, observa-se uma diminuição dos LD com o aumento do tempo de medida. Os LD obtidos com 250 s de medida são adequados para a determinação de contaminantes e nutrientes em material orgânico, sendo escolhido para as demais análises. Desta forma a frequência analítica será aumentada em quatro vezes e a vida útil do tubo poderá ser prolongada, devido a menores desgastes.

Tabela 3.8. Efeito do tempo de medida do TXRF no LD de Ca, K, Rb, Cl, S, P, Br, Rb, Zn, Sr, Cu, Ni, Fe, Mn, Cr e Ti em CRM NIST 1570a.

Elemento	Tempo de Medida (s)			
	250	500	750	1000
	LD (mg kg ⁻¹)			
P	77	54	45	39
S	44	31	26	22
Cl	29	20	16	14
K	12	8,7	6,9	6,0
Ti	2,3	1,6	1,3	1,1
Ca	7,7	5,4	4,4	3,8
Cr	1,4	0,98	0,79	0,70
Mn	1,2	0,83	0,67	0,58
Fe	0,94	0,66	0,54	0,47
Ni	0,64	0,45	0,37	0,32
Cu	0,58	0,41	0,34	0,29
Zn	0,51	0,37	0,30	0,26
Br	0,35	0,25	0,20	0,18
Rb	0,41	0,29	0,23	0,20
Sr	0,50	0,36	0,29	0,25

3.6.3 Método Otimizado

Após a otimização do método, as melhores condições estabelecidas foram: 20 mg de amostra suspensa em 2,5 mL de solução 0,1% v v⁻¹ de Triton X 114; 20 µL de solução 100 mg L⁻¹ de Ga (PI); processamento em sonoreator do tipo *cup horn* por 4 minutos; 10 µL de suspensão depositada em disco de quartzo previamente siliconizado; secagem do disco a vácuo por 15 min; leitura das amostras por 250 s no espectrômetro de TXRF com tubo de Mo K α (17,5 keV), operando a 50 kV e 600 µA de corrente.

3.6.4 Avaliação de Desempenho do Método

3.6.4.1 Avaliação da Seletividade do Método

A seletividade é o grau em que o método pode quantificar um analito acuradamente na presença de interferentes. Em fluorescência de raios X, os interferentes presentes na matriz podem aumentar ou diminuir o sinal analítico, e a magnitude do efeito pode depender da concentração

desses. Especialmente para amostras complexas, podem ocorrer fortes sobreposições de picos fluorescentes no espectro devido à diversidade de linhas de emissão dos elementos e a finita resolução do detector. Para alocar corretamente a intensidade dos elementos, o espectro é separado por linhas de emissão individual por um processo matemático chamado de deconvolução. O resultado é a área do pico (intensidade) fluorescente não sobreposto para cada elemento. O software SPECTRA realiza este procedimento (Bruker, 2012).

A Figura 3.21 mostra o espectro de raios X obtidos do CRM 029-50 – lodo de esgoto na faixa de energia de Cd $L\alpha$ (3,126 keV) a Y $K\alpha$ (14,882 keV). Como pode ser observado, o pico fluorescente da linha de emissão de K $K\alpha$ (3,313 keV) suprime fortemente o de Cd $L\alpha$ (3,126 keV) no nível da radiação de fundo. Isto pode ser atribuído à disproporção entre as concentrações de Cd (487 mg kg⁻¹) e K (2900 mg kg⁻¹) no material certificado, adicionalmente a produção da linha Cd $L\alpha$ com tubo de Mo $K\alpha$ (17,5 keV) tem baixa eficiência de excitação (Dhara & Misra, 2011). Por causa destas limitações Cd não foi detectado no material analisado. O pico fluorescente de Fe $K\beta$ (7,059 keV) sobrepõe o de Co $K\alpha$ (6,930 keV) e de Pb $L\alpha$ (10,551 keV) sobrepõe o de As $K\alpha$ (10,543 keV). Co, com valor certificado de 5,70 mg kg⁻¹, não foi quantificado na análise por TXRF desta amostra. O pico de Fe (concentração não informada) o sobrepõe. O resultado de recuperação de As foi superestimado (136%), entretanto o de Pb foi aceitável (106 %). A concentração de Pb no material é de 300 mg kg⁻¹ e a de As de 27,4 mg kg⁻¹, diferença que pode ter contribuído para os resultados de recuperação encontrados. De La Calle et al. (2013) ressaltam que há efeito de interferência de Pb sobre As quando a concentração do primeiro excede em 10 vezes a do segundo.

Considerar ou testar todos os interferentes potenciais é impraticável e quando for o caso, é recomendado que os casos mais críticos sejam checados (Thompson et al., 2002). Desta forma, selecionou-se os elementos As, Pb, Cr, Ni, Se e Cd para avaliação da seletividade do método em detectar e quantificá-los em tortas de oleaginosas. De acordo com a legislação brasileira para fertilizantes orgânicos (Brasil, 2006), estes são considerados contaminantes cujos valores máximos não devem exceder 20; 150; 200; 70; 80 e 3 mg kg⁻¹, respectivamente.

Na Tabela 3.9 são apresentados os resultados de recuperação de As, Pb, Cr, Ni e Se nas tortas de nabo forrageiro, pequi e tremoço fortificadas com os contaminantes no limite máximo da legislação.

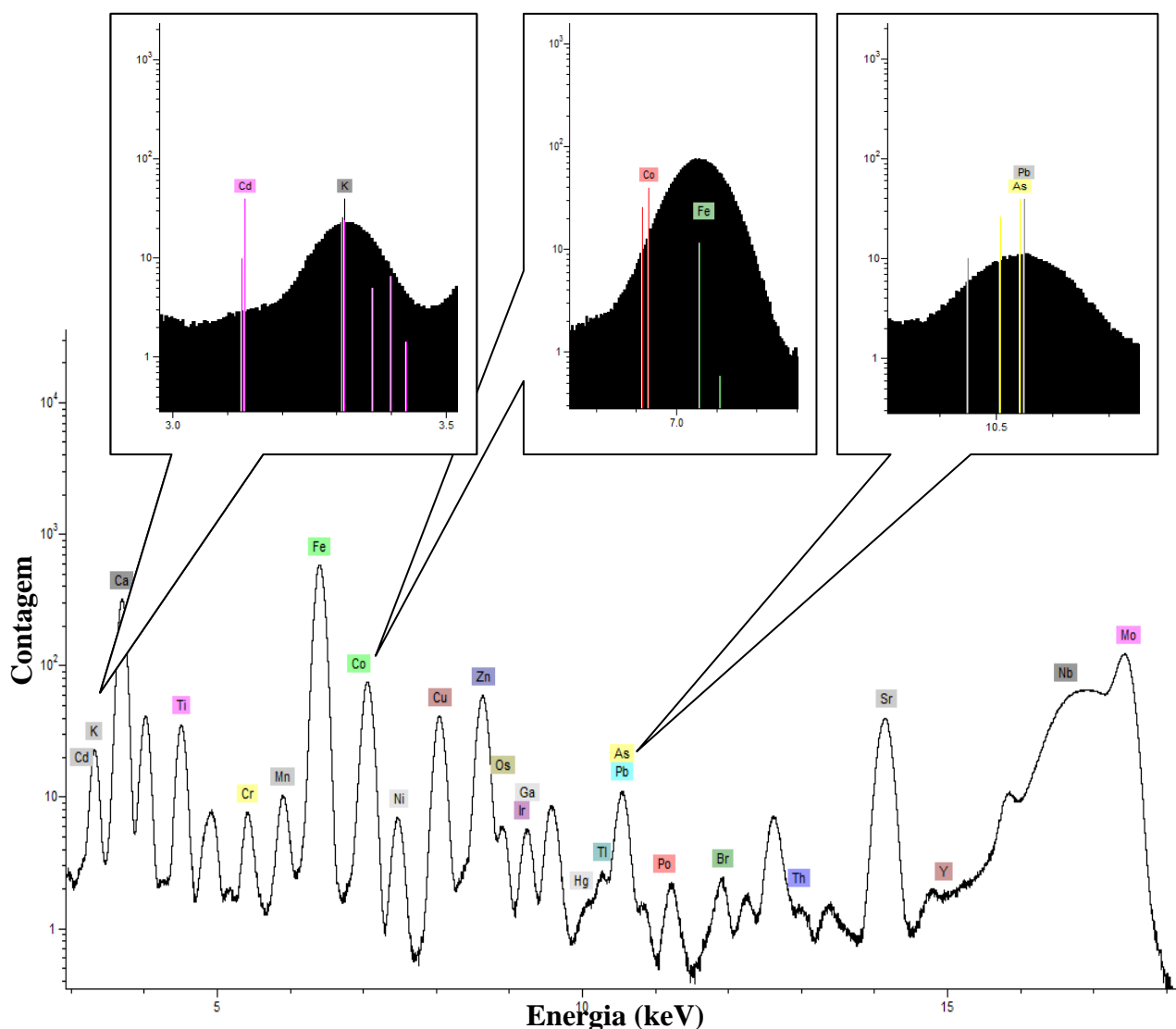


Figura 3.21. Espectro de raios X de CRM 029-50 no intervalo de energia de Cd La (3,126 keV) a Mo K α (17,5 keV). Em destaque as sobreposições dos picos de Cd La, Co K α e As K α .

Tabela 3.9. Resultado de recuperação de Cr, Ni, As, Se e Pb em tortas de nabo, pequi e tremoço fortificadas.

Torta	Nabo	Pequi	Tremoço
Elemento	Concentração (mg kg⁻¹)	Recuperação (%)	Recuperação (%)
Cr	200	81,8	84,0
Ni	70	60,3	64,3
As	20	59,7	81,1
Se	80	79,5	70,8
Pb	150	86,4	96,4

Cádmio não foi quantificado em nenhuma das tortas avaliadas, nas condições em que os experimentos foram realizados. Isto é característico de matrizes com presença de K cujo pico da linha de emissão $K\alpha$ suprime o de $Cd\ L\alpha$, como mencionado anteriormente. Portanto, conclui-se que o método desenvolvido não é eficiente para determinação de Cd em concentrações $\leq 3\text{ mg kg}^{-1}$ em matriz com presença de K. Limitação semelhante foi mencionada no trabalho de Dhara & Misra (2011) na análise de material certificado de água de chuva por TXRF com tubo de $Mo\ K\alpha$ (17,5 KeV). Como a radiação emitida pela fonte é inferior à linha de emissão de $Cd\ K\alpha$ (23,17 keV) somente a linha $L\alpha$ (3,126 keV) pode ser excitada, e essa apresenta baixa eficiência de excitação.

Para os demais elementos, foi possível a detecção. Principalmente para As e Pb cujas linhas de emissão podem sofrer interferências. Os baixos rendimentos de recuperação observados podem estar associados à granulometria das amostras dopadas, a heterogeneidade, a matriz da torta, o procedimento de dopagem (*spiking*) e também a variação devida à irregularidade da amostra após a secagem no disco de quartzo. Esses fatores devem ser levados em consideração.

No trabalho de Dhara & Misra (2011) não foi possível quantificar As (valor certificado $0,14\ \mu\text{g L}^{-1}$) em presença de Pb (valor certificado $2,2\ \mu\text{g L}^{-1}$). O valor encontrado para Pb foi superestimado (122%). Parra (2011) determinou As em cebolas (folhas, bulbo e raiz) levando em consideração a interferência da linha $Pb\ L\alpha$ (teor nas amostras não informado). De acordo com o autor os resultados encontrados por TXRF foram concordantes com os obtidos por HG-AAS. As concentrações de As encontradas foram $4\pm 3\text{ mg kg}^{-1}$ nas folhas, $11\pm 6\text{ mg kg}^{-1}$ para o bulbo e $38\pm 31\text{ mg kg}^{-1}$ nas raízes. O trabalho não reporta nada a respeito dos altos desvios padrões observados.

3.6.4.2 Extração de Potássio

Houve uma tentativa de extração de K do CRM NIST 1570a com água para posterior quantificação de Cd. Esta amostra foi escolhida porque a concentração de Cd ($2,786\text{ mg kg}^{-1}$) é próxima do limite máximo estabelecido para Cd em fertilizantes orgânicos ($3,0\text{ mg kg}^{-1}$). Na Tabela 3.10 são apresentados os resultados comparativos das análises da amostra sem extração e após extração e na Figura 3.22 fragmentos dos espectros de raios X. A concentração de K foi decrescida por um fator de 100 e mesmo nestas condições Cd não foi detectado. Além disto, o procedimento extraiu também outros constituintes da amostra. Conclui-se assim que esse procedimento não é viável.

Tabela 3.10. Resultados obtidos para avaliação do procedimento de extração de K do NIST 1570a.

NIST 1570a			
Elemento	Valor Certificado	Sem Extração	Após Extração
Concentração (mg kg ⁻¹)			
P	5187	4167	1501
S	5000	4170	2301
*Cl	-	5505	285
K	29000	23281	233
Ca	15260	13681	11118
Cd	2,876	ND	ND
*Ti	-	17	16,4
Cr	-	1,6	1,4
Mn	76	66,5	16,8
*Fe	-	263,1	205,8
Ni	2,142	1,8	1,1
Cu	1,22	11,3	6,4
Zn	82,3	71,4	10,7
*Br	-	33	9,8
Rb	12,7	8,4	ND
*Sr	-	47	31

*Valor não informado

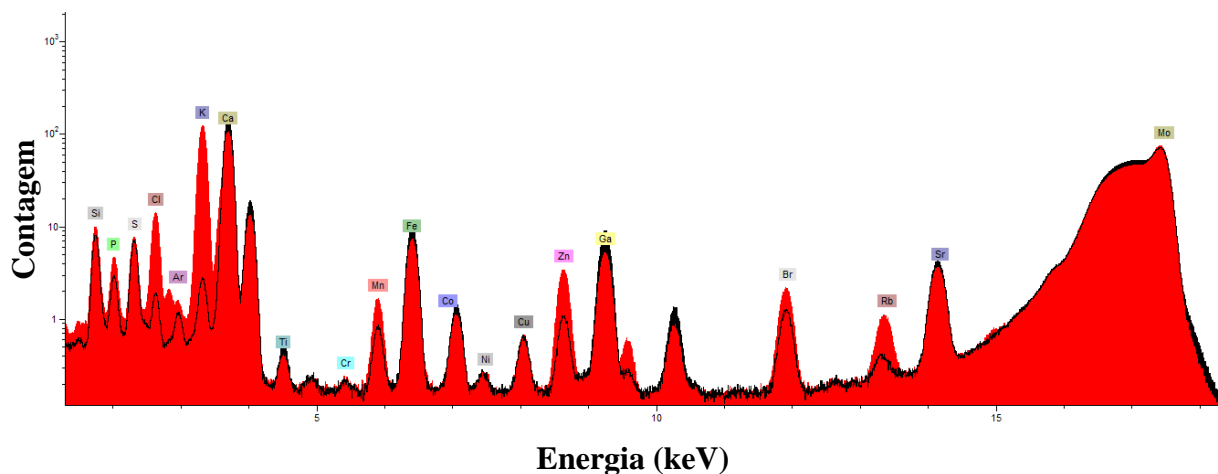


Figura 3.22. Fragmentos dos espectros de raios X de NIST 1570a sem procedimento de extração (vermelho) e após extração (preto).

3.6.4.3 Avaliação de Figuras de Mérito do Método: Veracidade, Precisão e Limites de Detecção e Quantificação

O desempenho do método analítico desenvolvido foi avaliado por meio da análise de quatro materiais de referência certificados. Na Tabela 3.11 são apresentados os valores certificados, os

valores determinados, a porcentagem de recuperação, a repetibilidade em termos de desvio padrão relativo (DPR), os LD e LQ para os materiais NIST 1567a, NIST 1547, NIST 1573a e CRM 029-50.

As suspensões apresentaram boa estabilidade e imperceptíveis partículas sólidas não dissolvidas, exceção para a suspensão do CRM 029-50 cujos fragmentos eram visíveis.

A análise do material lodo de esgoto 2 CRM 029-50 foi realizada usando Se como padrão interno, porque a amostra possui Irídio cuja linha de emissão $L\alpha$ (9,175 keV) interferiu na linha de emissão $GaK\alpha$ (9,250 keV) e os resultados foram superestimados (Figura 3.23). Os valores de concentração determinados, para esse material, estão de acordo com os valores certificados, para a maioria dos analitos avaliados. As recuperações estão na faixa de 95 – 110%, exceto para K e As, cujos valores determinados foram superestimados (126% e 136%, respectivamente) e Mn com valor determinado subestimado (64%).

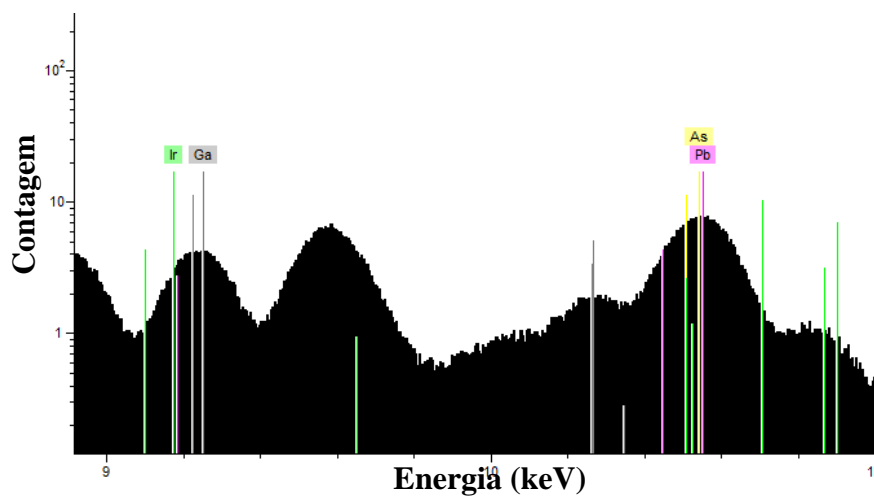


Figura 3.23. Fragmento de espectro de raios X CRM 029-50 destacando as sobreposições de picos fluorescentes de $IrL\alpha$ (9,175 keV) e $GaK\alpha$ (9,250 keV); $PbL\alpha$ (10,551 keV) e $AsK\alpha$ (10,543 keV).

Tabela 3.11. Resultados obtidos da avaliação dos materiais CRM 029-50, NIST 1547, NIST 1573a e NIST 1567a.

Lodo de Esgoto 2 CRM029-50							Folhas de Pêssego NIST 1547						
Elem	Certificado (mg kg ⁻¹)	Determinado ± s (mg kg ⁻¹)	Recup. (%)	DPR (%)	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)	Elem	Certificado (mg kg ⁻¹)	Determinado ± s (mg kg ⁻¹)	Recup. (%)	DPR (%)	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
P	21700	21644 ± 796	99,7	3,7	129	429	P	1370	1328 ± 54	96,9	4,1	63,6	212
S	13600	13430 ± 356	98,8	2,7	71,4	238	Cl	360	258 ± 25	71,6	9,7	22,7	75,8
K	3370	4238 ± 170	126	4,0	19,2	63,9	K	24300	21314 ± 279	87,7	1,3	11,0	36,7
Ca	48400	4555 ± 653	94,1	1,4	13,3	44,2	Ca	15600	17722 ± 263	114	1,5	7,03	23,4
Cr	345	343 ± 5	99,5	1,5	3,90	12,9	Mn	98,0	93,1 ± 0,5	95,0	0,5	1,16	3,86
Mn	399	254 ± 4	63,6	1,8	3,30	11,1	Fe	218	244 ± 16	112	6,5	0,860	2,87
Fe	20700	22764 ± 561	110,0	2,5	2,60	8,50	Ni	0,690	1,30 ± 0,10	189	9,6	0,590	1,96
Ni	172	178 ± 8	103,2	4,4	1,60	5,30	Cu	3,70	3,50 ± 0,20	93,4	5,3	0,510	1,71
Cu	1100	1023 ± 32	93,0	3,1	1,30	4,50	Zn	17,9	17,8 ± 0,7	99,7	4,2	0,460	1,52
Zn	1400	1401 ± 16	100,1	1,1	1,30	4,40	Br*	11,0	11,5 ± 0,1	105	0,9	0,320	1,06
Sr	647	612 ± 13	94,7	2,2	0,70	2,40	Rb	19,7	14,6 ± 0,6	73,9	4,2	0,370	1,24
Ba	1080	1072 ± 102	99,2	9,5	29,4	98,1	Sr	53,0	58,4 ± 1,2	110	2,1	0,450	1,51
Tl	44,9	43,3 ± 4,6	96,4	11	5,50	18,2	Ba	124	224 ± 6	181	2,6	4,94	16,5
Pb	300	319 ± 18	106,5	5,5	1,10	3,60	Pb	0,870	1,00 ± 0,08	111	8,9	0,440	1,46
As	27,4	37,3 ± 1,2	136,2	3,2	0,93	3,10							
Folhas de Tomate NIST 1573a							Farinha de Trigo NIST 1567a						
Elem	Certificado (mg kg ⁻¹)	Determinado ± s (mg kg ⁻¹)	Recup. (%)	DPR (%)	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)	Elem	Certificado (mg kg ⁻¹)	Determinado ± s (mg kg ⁻¹)	Recup (%)	DPR (%)	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
P	2160	1909 ± 96	88,4	5,0	96,3	321	P	1340	1024 ± 43	76,4	4,2	52,0	174
Cl	6600	5556 ± 487	84,2	8,8	36,0	120	S	1650	1350 ± 36	81,8	2,6	27,1	90,4
K	27000	22221 ± 2026	82,3	9,1	16,0	53,3	K	1330	1404 ± 71	106	5,1	6,45	21,5
Ca	50500	44730 ± 733	88,6	1,6	10,2	33,9	Ca	191	464 ± 48	243	10	4,10	13,7
Cr	1,99	2,00 ± 0,20	103	14	1,80	5,90	Mn	9,4	9,4 ± 0,6	100	6,9	1,09	3,63
Mn	246	209 ± 16	85,1	7,6	1,40	4,70	Cu	2,1	2,00 ± 0,11	95,6	5,8	0,55	1,83
Fe	368	388 ± 27	106	7,0	1,10	3,70	Se	1,1	0,92 ± 0,09	84,2	11	0,38	1,26
Ni	1,59	4,10 ± 0,30	258	7,1	0,800	2,50	Br*	6	6,02 ± 0,52	100	8,8	0,35	1,16
Cu	4,70	3,90 ± 0,40	83,6	11,4	0,700	2,20							
Zn	30,9	26,8 ± 1,9	86,7	7,3	0,600	1,90							

*Valor não certificado

As recuperações obtidas a partir do material folhas de pêssigo NIST 1547 encontram-se na faixa de 71 – 189% (faixa aceitável de 80 – 110%, Taverniers et al., 2004). Discrepâncias foram observadas para as determinações de Cl (71,6%), Ni (189%), Ba (181%) e Rb (74%). O valor superestimado para Ni pode estar associado a sua concentração ($0,690 \text{ mg kg}^{-1}$) abaixo do LQ do método ($1,96 \text{ mg kg}^{-1}$); o de Ba ao baixo teor nesta amostra (124 mg kg^{-1}) e a recuperação subestimada para Rb associada a limitação da técnica em determinar este analito em presença de Si. As recuperações para Pb ($111 \pm 10\%$) e Fe ($112 \pm 7,3\%$), considerando os desvios associados em termos de recuperação, estão dentro da faixa aceitável, para Ca ($114 \pm 2\%$) o erro associado é de 2%. Portanto, para os 14 elementos analisados, considera-se que apenas quatro estão fora da faixa aceitável, os demais apresentaram concentrações concordantes com as certificados para o NIST 1547.

Para o CRM NIST 1573a as recuperações estão na faixa aceitável, exceto para Ni, cuja concentração ($1,59 \text{ mg kg}^{-1}$) se encontra abaixo ao LQ ($2,50 \text{ mg kg}^{-1}$). Os resultados de recuperações obtidas para o CRM NIST 1567a estão concordante para a maioria dos elementos investigados, exceto para P (76%) e Ca (243%). A recuperação superestimada observada para Ca pode estar associada ao seu teor na amostra (191 mg kg^{-1}) sendo que nos demais CRM investigados as recuperações foram aceitáveis. Os CRM NIST 1547 e NIST 1573a apresentam concentrações de P na mesma faixa do CRM NIST 1573a, os quais apresentaram recuperações satisfatórias (97 e 88%, respectivamente).

Os desvios padrões relativos apresentaram resultados inferiores a 11,5% para todos os materiais investigados, exceto para Cr no CRM NIST 1573a (DPR = 14%) (faixa aceitável de 1,3 – 11%, Taverniers et al., 2004).

O LD obtido a partir do critério 3 sigma, de acordo com a Equação 3.6 descrita na *seção 3.2.2*, tem um valor prático limitado já que esse depende fortemente do sinal da radiação de fundo, a qual é característica de cada matriz, e da concentração do analito. Portanto, é esperada uma variação considerável do LD e, conseqüentemente, do LQ para um mesmo elemento em diferentes amostras. Assim não é possível estabelecer um LQ para o método, mas sim obter uma estimativa para as diferentes matrizes e composições avaliadas.

Na Tabela 3.12 são apresentados os resultados de recuperação, o DPR, o LQ e LD de acordo com o intervalo de concentração cujas recuperações apresentaram valores dentro do critério de aceitação (faixa aceitável de 80 – 110%, Taverniers et al., 2004).

Tabela 3.12. Intervalo de concentração dos CRM NIST 1567a, NIST 1547, NIST 1573a e CRM 029-50 e seus respectivos resultados de porcentagem de recuperação, DPR, LQ e LD.

Elemento	Faixa (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)	DPR (%)	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
P	1370 - 21700	88 – 99,7	3,7 – 5,0	52 - 129	173 - 429
Cl	6600	84	8,8	36	120
S	1650 - 13600	82 - 99	2,6 – 2,7	27 - 71	90 - 238
K	1330 - 27000	82 - 106	1,3 – 9,1	6,5 – 19,2	37 - 53
Ca	15600 - 50500	87 - 114	1,4 – 1,6	7 – 13,3	23 - 34
Cr	1,99 - 345	99,5 - 103	1,5 - 14	1,8 – 3,9	5,9 – 12,9
Mn	9,4 - 246	85 - 100	0,5 – 7,6	1,2 – 3,3	3,6 – 11,1
Fe	218 - 20700	105 - 112	2,5 – 7,0	0,9 – 2,6	2,9 – 8,5
Ni	172	103	4,4	1,6	5,3
Cu	2,1 - 1100	84 - 96	3,1- 11,4	0,5 – 1,3	1,7 – 4,5
Zn	17,9 - 1400	87 – 106	1,1- 7,3	0,5 – 1,3	1,5- 4,4
Sr	53 - 647	95 - 110	2,1- 2,2	0,5 – 0,7	1,5 – 2,4
Ba	1080	99,2	9,5	29,4	98,1
Tl	44,9	99,4	10,7	5,5	18,2
Pb	0,87 - 300	106- 111	5,5 – 8,9	0,4 – 1,1	1,5 – 3,6
Br	6 - 11	100 - 105	0,9 – 8,8	0,32 – 0,35	1,06 – 1,16
Se	1,1	84,2	10,7	0,38	1,26

Portanto, o método desenvolvido apresenta boa veracidade e precisão para a faixa de concentração destacada na Tabela 3.12 para os analitos P, Cl, S, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Sr, Ba, Tl, Pb, Br e Se. Além de que se mostrou adequado para análises de matrizes diferenciadas e analitos como Se, S, P e Cl por meio de um preparo de amostra simples, relativamente rápido (cerca de 4 minutos de sonicação, 15 min para secagem da amostra e 4 min para aquisição do sinal analítico) e que consome pouquíssimo ou praticamente nenhum reagente. De acordo com esse requisito o método proposto atende ao princípio da química verde no que diz respeito à prevenção de geração de resíduo que é melhor do que tratá-lo após a sua geração.

3.6.5 Aplicação do Método na Análise das Tortas

O método desenvolvido foi aplicado na análise das tortas de oleaginosas. Nas Tabelas 3.13 - 3.16 são apresentados os resultados obtidos por TXRF (concentração, DPR, LD e LQ), os resultados obtidos por ICP OES e o valor de t-Student calculado.

Em função das diferenças na granulometria das amostras, algumas suspensões apresentaram baixa estabilidade, ou seja, a sedimentação das partículas acontecia de forma rápida. Para contornar esse problema, as alíquotas para análise foram retiradas rapidamente após a agitação em vortex e depositadas em seguida sobre o disco de quartzo.

Para a maioria das tortas analisadas, as concentrações determinadas por TXRF foram estatisticamente diferentes das obtidas por ICP OES ($t\text{-calculado} > t\text{-crítico}$, 2,78) a um nível de confiança de 95% (Tabelas 3.13 – 3.16). Para facilitar a comparação, na Tabela 3.17 são apresentados os resultados obtidos por TXRF em termos de porcentagem de recuperação, considerado os valores obtidos por ICP OES como 100%.

Tabela 3.13. Resultados experimentais das análises de tortas de palma e girassol por TXRF e comparação com as determinações por ICP OES.

Elemento	Palma						Girassol					
	Conc. ICP OES (mg kg ⁻¹)	Conc. TXRF (mg kg ⁻¹)	t-Calculado	DPR (%)	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)	Conc. ICP OES (mg kg ⁻¹)	Conc. TXRF (mg kg ⁻¹)	t-Calculado	DPR (%)	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
P		1038 ± 124		11,9	86,0	287		6339 ± 159		2,5	50,6	168,6
S		8933 ± 503		5,6	46,1	154		2717 ± 211		7,8	28,3	94,2
Cl		45,0 ± 4,1		9,2	26,8	89,3		770 ± 10		1,2	17,3	57,6
K	15259 ± 518	5474 ± 854	451	15,6	12,6	41,9	13001 ± 174	11315 ± 383	120	3,4	6,9	23,0
Ca	16278 ± 660	12394 ± 3886	204	3,1	8,40	27,9	2617 ± 56	2104 ± 88	73,4	4,2	4,2	14,1
Cr	68,8 ± 1,3	15,2 ± 2,0	50,5	13,0	3,10	10,2	0,17 ± 0,06	5,9 ± 0,4	13,1	7,0	1,0	3,4
Mn	768 ± 7	582 ± 27	51,4	4,6	2,60	8,80	14,0 ± 0,30	28,7 ± 1,6	16,8	5,4	0,8	2,8
Fe	33402 ± 936	10796 ± 1968	705	18,2	2,10	6,80	137 ± 3	130 ± 9	3,20	7,2	0,7	2,3
Ni	16,9 ± 0,3	6,20 ± 0,40	22,0	6,9	0,800	2,60	0,81 ± 0,04	2,1 ± 0,1	5,70	5,0	0,5	1,6
Cu	23,0 ± 0,7	12,7 ± 1,0	13,6	7,9	0,600	2,10	26,2 ± 0,4	23,4 ± 1,3	3,50	5,5	0,4	1,5
Zn	80,1 ± 9,5	29,5 ± 4,1	22,9	13,9	0,600	1,90	93,5 ± 0,8	94,1 ± 4,3	0,410	4,6	0,4	1,4
Br		0,80 ± 0,10		15,2	0,300	1,20		1,4 ± 0,1		10,6	0,3	0,9
Rb		37,0 ± 7,7		20,7	0,400	1,40		15,4 ± 1,0		6,3	0,3	1,0
Sr		73,6 ± 2,4		3,3	0,500	1,60		8,4 ± 0,4		5,0	0,4	1,3
Ba		127 ± 43		34,0	8,90	29,7						
Pb	94,7 ± 3,8	5,2 ± 2,6		49,1	0,500	1,70	25,3 ± 2,3					

Tabela 3.14. Resultados experimentais das análises de tortas de nabo e mamona por TXRF e comparação com as determinações por ICP OES.

Elemento	Nabo						Mamona					
	Conc. ICP OES (mg kg ⁻¹)	Conc. TXRF (mg kg ⁻¹)	t-Calculado	DPR (%)	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)	Conc. ICP OES (mg kg ⁻¹)	Conc. TXRF (mg kg ⁻¹)	t-Calculado	DPR (%)	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
P		7853 ± 327		4,2	53,5	179		6524 ± 157		2,4	50,0	167
S		14915 ± 479		3,2	29,2	97,2		2432 ± 283		11,6	28,0	93,3
Cl		442 ± 21,2		4,8	16,6	55,5		747 ± 30		4,0	17,3	57,5
K	11089 ± 124	8891 ± 752	116	8,5	6,60	22,0	12410 ± 188	10812 ± 703	86,0	6,5	6,90	22,9
Ca	3606 ± 52	2549 ± 89	151	3,5	4,10	13,8	2977 ± 41	2344 ± 153	73,4	6,5	4,30	14,2
Cr							12,9 ± 4,0	14,8 ± 1,0	1,30	7,1	1,10	3,60
Mn	16,3 ± 0,2	26,2 ± 1,2	13,1	4,7	0,900	3,00	4,30 ± 0,60	18,9 ± 0,8	21,2	4,3	0,900	2,90
Fe	923 ± 11	690 ± 38	53,7	5,6	0,700	2,40	298 ± 48	214 ± 8	17,5	3,6	0,700	2,30
Ni	13,0 ± 0,4	10,1 ± 0,3	6,20	2,5	0,500	1,60	2,60 ± 0,30	4,30 ± 0,50	3,20	10,9	0,500	1,80
Cu	5,20 ± 0,10	4,50 ± 0,50	1,40	10,3	0,400	1,40	23,5 ± 0,4	21,1 ± 0,9	3,50	4,1	0,500	1,50
Zn	58,7 ± 0,4	48,9 ± 6,4	5,60	13,2	0,400	1,30	74,4 ± 1,0	68,2 ± 3,9	4,50	5,7	0,400	1,50
Br		1,70 ± 0,40		24,3	0,300	0,900						
Rb		17,3 ± 0,5		3,0	0,300	1,00		23,2 ± 0,9		4,1	0,300	1,00
Sr		21,0 ± 1,0		4,8	0,400	1,20		5,80 ± 0,20		3,8	0,400	1,30
Pb	23,9 ± 1,3						32,6 ± 1,9					

Tabela 3.15. Resultados experimentais das análises de tortas de pequi e pinhão por TXRF e comparação com as determinações por ICP OES.

Elemento	Pequi						Pinhão					
	Conc. ICP OES (mg kg ⁻¹)	Conc. TXRF (mg kg ⁻¹)	t-Calculado	DPR (%)	LLD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)	Conc. ICP OES (mg kg ⁻¹)	Conc. TXRF (mg kg ⁻¹)	t-Calculado	DPR (%)	LLD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
P		758 ± 40		5,30	37,1	124		7828 ± 682		8,7	48,2	161
S		744 ± 58		7,80	20,6	68,7		3372 ± 188		5,6	26,9	89,7
Cl		982 ± 94		9,60	13,1	43,8		677 ± 30		4,5	16,3	54,3
K	7246 ± 318	6438 ± 716	42,0	11,1	5,40	17,8	13490 ± 152	9383 ± 390	292	4,2	6,6	21,9
Ca	906 ± 43	706 ± 36	39,0	5,10	3,30	10,9	5769 ± 68	3486 ± 170	246	4,9	4,1	13,8
Cr	0,340 ± 0,110	4,10 ± 1,10	5,20	27,5	0,900	3,10		1,48 ± 0,04		3,1	0,9	3,1
Mn		12,3 ± 0,6		5,20	0,800	2,70	12,4 ± 0,7	21,3 ± 1,2	11,0	5,6	0,8	2,6
Fe	54,9 ± 2,2	57,6 ± 8,3	1,30	14,3	0,700	2,20	234 ± 6	207 ± 8	12,3	4,0	0,6	2,1
Ni		0,900 ± 0,100		8,10	0,400	1,50	0,480 ± 0,220	2,70 ± 0,30	5,30	10,5	0,4	1,5
Cu	8,50 ± 0,30	7,40 ± 0,40	2,20	4,70	0,400	1,30	22,1 ± 0,2	19,1 ± 0,7	5,10	3,6	0,4	1,4
Zn	11,8 ± 0,3	10,7 ± 0,9	1,60	8,50	0,400	1,20	134 ± 2	129 ± 10	2,40	7,6	0,4	1,3
Br		2,22 ± 0,01		0,700	0,200	0,800		0,80 ± 0,20		25,6	0,2	0,8
Rb		13,3 ± 0,9		6,80	0,300	0,900		11,2 ± 1,0		9,3	0,3	0,9
Sr		2,30 ± 0,50		19,5	0,300	1,10		14,8 ± 0,9		6,1	0,3	1,1
Pb	9,00 ± 0,90						30,3 ± 2,3					

Tabela 3.16. Resultados experimentais das análises de tortas de tremoço e colza por TXRF e comparação com as determinações por ICP OES.

Elemento	Tremoço						Colza					
	Conc. ICP OES (mg kg ⁻¹)	Conc. TXRF (mg kg ⁻¹)	t-Calculado	DPR (%)	LLD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)	Conc. ICP OES (mg kg ⁻¹)	Conc. TXRF (mg kg)	t-Calculado	DPR (%)	LLD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
P		3586 ± 341		9,5	51,5	172		7785 ± 347		4,5	50,2	167
S		2627 ± 339		13	28,3	94,4		4652 ± 253		5,4	27,1	90,4
Cl		386 ± 52		14	17,2	57,2		173 ± 7		4,2	15,8	52,6
K	10152 ± 285	9244 ± 862	43,8	9,3	7,10	23,5	10246 ± 480	7928 ± 480	129	6,1	6,80	22,8
Ca	1911 ± 62	1614 ± 119	37,4	7,3	4,40	14,7	6251 ± 253	3897 ± 300	173	7,7	4,40	14,5
Cr												
Mn	552 ± 19	493 ± 12	18,0	2,5	1,00	3,30	53,7 ± 1,5	53,0 ± 2,7	0,580	5,0	0,900	2,90
Fe	109 ± 5	95,4 ± 14,2	5,0	15	0,800	2,60	72,1 ± 4,6	68,7 ± 4,6	1,94	6,7	0,700	2,30
Ni		2,20 ± 0,20		9,2	0,500	1,80		1,20 ± 0,03		2,9	0,500	1,80
Cu	9,80 ± 0,20	9,30 ± 1,00	0,72	11	0,500	1,60	5,00 ± 0,10	4,10 ± 0,40	2,00	8,9	0,400	1,50
Zn	66,9 ± 1,3	62,1 ± 0,7	5,7	1,1	0,500	1,50	63,6 ± 1,0	54,3 ± 1,9	9,20	3,6	0,400	1,30
Br		0,900 ± 0,100		14	0,300	1,00		10,7 ± 0,6		6,0	0,300	1,00
Rb		8,50 ± 0,70		8,3	0,300	1,10		17,9 ± 2,1		12	0,400	1,30
Sr		15,0 ± 1,2		8,1	0,400	1,40		17,1 ± 1,0		6,0	3,70	12,3
Pb	14,1 ± 0,7						29,2 ± 3,1					

Tabela 3.17. Porcentagem de recuperação dos analitos K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu e Zn nas tortas de oleaginosas determinados por TXRF e por ICP OES, sendo os resultados do ICP OES considerados como 100%.

Elemento	Tortas							
	Palma	Girassol	Nabo	Mamona	Pequi	Pinhão	Tremoço	Colza
	Recuperação (%)							
K	36	87	80	87	89	70	91	77
Ca	76	80	71	79	78	60	84	62
Cr	22	3471		115	1206			
Mn	76	205	161	440		172	89	99
Fe	32	95	75	72	105	88	88	95
Ni	37	259	78	165		563		
Cu	55	89	87	90	87	86	95	82
Zn	37	101	83	92	91	96	93	85

Como pode ser observada (Tabela 3.17), a torta de palma apresentou as piores recuperações (32 – 76%) dentre as tortas analisadas. Essa torta é a que apresenta maior heterogeneidade entre as avaliadas, o que refletiu também nos elevados DPR (3,13 – 49%) (Tabela 3.13). Como mencionado no capítulo 2, não foi possível homogeneizá-la devido a sua textura que se assemelha a uma pasta e isto refletiu nos divergentes resultados obtidos por TXRF e por ICP OES.

Para as demais tortas as recuperações estão no intervalo de 60 – 101%. Resultados discrepantes são observados para os analitos Cr, Mn e Ni. As divergências de resultados para estes analitos não é específica de uma torta (Tabela 3.17). O método desenvolvido para análise das tortas por ICP OES apresentou veracidade de 77% para Mn (Tabela 2.6); Cr e Ni não foram quantificados nas concentrações apresentadas pelos CRMs por se encontrarem abaixo do LQ do método (0,69 mg kg⁻¹ e 2,142 mg kg⁻¹ de Ni e 1,0 mg kg⁻¹ de Cr) e, portanto, nada pode ser afirmado em relação a veracidade do método para determinações desses dois últimos elementos por ICP OES. Contudo, a veracidade do método por TXRF para as determinações de Cr e Mn foram satisfatórias para a faixa de concentração avaliada (recuperações de Cr de 103% e 99% para as concentrações de 1,99 mg kg⁻¹ e 345 mg kg⁻¹, respectivamente e as recuperações de Mn de 100%; 95% e 85% para as concentrações de 9,5 mg kg⁻¹; 98 mg kg⁻¹ e 246 mg kg⁻¹). Para Ni, as recuperações obtidas por TXRF para as concentrações de 2,142 mg kg⁻¹ (CRM NIST 1570a) e 172 mg kg⁻¹ (CRM 029-50), apresentaram resultados satisfatórios. De qualquer forma, para os contaminantes Cr e Ni, independente da técnica utilizada e da discrepância entre os valores, é

possível verificar a conformidade dos produtos frente aos valores estabelecidos na legislação. Para o micronutriente Mn, a situação é semelhante. Por qualquer um dos métodos utilizados, conclui-se que a maior parte das tortas utilizadas não é uma fonte desse nutriente, de acordo com o estabelecido pelo MAPA.

Os métodos desenvolvidos foram validados com o uso de materiais de referência certificados, os quais possuem uma homogeneidade superior a das matrizes analisadas, além de que a faixa de distribuição granulométrica das partículas é mais estreita que as das tortas avaliadas. Portanto é de se esperar que quando o método é aplicado em amostras mais complexas a sua performance pode ser alterada, principalmente para amostras na forma de suspensão. Para fins de comparação da performance dos métodos, idealmente as amostras deveriam ser tratadas da mesma forma, ou seja, as determinações por TXRF poderiam ter sido conduzidas nos digeridos das tortas analisados por ICP OES.

Nas determinações por ICP OES o preparo da amostra envolveu a digestão da mesma e praticamente nenhum resíduo foi observado nos digeridos, o que contribuiu significativamente para a repetitividade dos resultados e conseqüentemente menores DPR que os observados pelas determinações por TXRF, além de que a massa amostrada (250 mg) para as determinações por ICP OES é superior a analisada por TXRF (20 mg). As análises das tortas por TXRF apresentaram DPR abaixo de 12%, exceções são observadas para alguns analitos: Br na torta de nabo, pinhão e tremoço (24%, 26% e 14%, respectivamente), Cr na torta de pequi (27,5 %), Fe e Cl na torta de tremoço (15% e 14%, respectivamente).

Em se tratando de preparo de amostra na forma de suspensão para análise por TXRF, variações na deposição da amostra sobre o porta amostra e irregularidades na superfície do filme fino (presença de partículas) interferem diretamente na repetitividade dos resultados. Portanto é de se esperar maiores DPR para as determinações por TXRF em comparação com as por ICP OES.

3.7 Conclusão

O método analítico desenvolvido neste trabalho para determinação do teor total de micronutrientes, macronutrientes e contaminantes (P, Cl, S, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Sr, Ba, Tl, Pb, Br e Se) por TXRF apresenta seletividade, limite de quantificação, veracidade e precisão satisfatórios para a proposta do trabalho. Entretanto, uma limitação importante observada é a impossibilidade de determinação de Cd na concentração estabelecida pela legislação ($\leq 3,0 \text{ mg kg}^{-1}$).

O método merece destaque por apresentar características como: simplificação no preparo da amostra e facilidade na aquisição do sinal analítico, resultando em menor tempo gasto de análise e, portanto, uma maior frequência analítica; minimização dos riscos de contaminação já que são usadas reduzidas quantidades de reagentes (Triton X 114); eliminação da possibilidade de perdas por volatilização de elementos, como As e Se; minimização de geração de resíduos e baixo custo de aplicação.

Métodos analíticos simples, de baixo custo e com bom desempenho analítico são fundamentais para o controle de qualidade de fertilizantes orgânicos, neste sentido o método proposto se mostra como uma potencial alternativa aos métodos recomendados pelo MAPA.

Contudo, entende-se que mais estudos devem ser conduzidos para avaliação de interferências espectrais dos analitos Fe, As, Ca, K sobre os elementos Co, Pb, K e Ca, respectivamente, quando os primeiros se encontram em concentrações mais elevadas que os segundos.

3.8 Referências

Abraham, J.A.; Sánchez, H.J; Valentinuzzi, M.C.; Grenónb, M.S. Influence of smoking on the elemental composition of oral fluids: a TXRF approach. **X-Ray Spectrometry**, v.39, p.372–375, 2010.

Abraham, J.A.; Sánchez, H.J; Grenónb, M.S.; Pérez, C.A. TXRF analysis of metals in oral fluids of patients with dental implants. **X-Ray Spectrometry**, v.43, p.193–197, 2014.

Alvarez, J.; Marcó, L.M.; Arroyo, J.; Greaves, E.D.; Rivas, R. Determination of calcium, potassium, manganese, iron, copper and zinc levels in representative samples of two onion cultivars using total reflection X-ray fluorescence and ultrasound extraction procedure, **Spectrochimica Acta Part B**, v. 58, p.2183–2189, 2003.

Álvarez-Vázquez, M.A.; Bendicho, C.; Prego, R. Ultrasonic slurry sampling combined with total reflection X-ray spectrometry for multi-elemental analysis of coastal sediments in a ria system. **Microchemical Journal**, v. 112, p.172-180, 2014.

Andrade, F.P Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de constituintes inorgânicos em tortas de biodiesel para avaliação de potencialidades de utilização para nutrição animal. **Tese** (Doutorado em Química Analítica), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2012.

Ardid, M.; Ferrero, J.L.; Juanes, D. Comparison of total reflection X-ray fluorescence, static and portable energy dispersive X-ray fluorescence spectrometers for art and archeometry studies. **Spectrochimica Acta Part B**, v.59, p. 1581-1586, 2004.

Barthelme, D.; Scheele, U.; Dinkelaker, S.; Janoschka, A.; Macmillan, F.; Albers, S.V.; Driessen, Ajm; Stagni, M.S.; Bill, E.; Meyer-Klaucke, W.; Schunemann, V.; Tampe, R. Structural organization of essential iron-sulfur clusters in the evolutionarily highly conserved ATP-binding cassette protein ABCE1. **Journal Of Biological Chemistry**, v. 282, pp.14598-14607, 2007.

Belmonte, E. P. Espectrometria por fluorescência de raios X por reflexão total: um estudo simulado utilizando o método de Monte Carlo. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Nuclear), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rj, 2005

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº27 de 06 de junho de 2006.

BRUKER (Ed.). S2 Picofox: User Manual. Berlim: Bruker, 2012. 118 p.

Boman, J.; Wagner, A.; Gatari, M.J. Trace elements in PM_{2.5} in Gothenburg, Sweden. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 65, p.478–482, 2010.

Bonizzoni, L.; Galli, A.; Gondola, M.; Martini, M. Comparison between XRF, TXRF, and PXRF analyses for provenance classification of archaeological bricks. **X-Ray Spectrometry**, v.42, p.262–267, 2013.

Borgese, L.; Zacco, A.; Pal, S.; Bontempi, E.; Lucchini, R.; Zimmerman, N.; Depero, L. A new non-destructive method for chemical analysis of particulate matter filters: the case of manganese air pollution in Vallecamonica (Italy). **Talanta**, v. 84, p. 192–198, 2011.

Borgese, L.; Zacco, A.; Bontempi, E.; Pellegatta, M.; Vigna, L.; Patrini, L.; Riboldi, L.; Rubino, F.M.; Depero, L.E. Use of total reflection X-ray fluorescence (TXRF) for the evaluation of heavy metal poisoning due to the improper use of a traditional ayurvedic drug. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 52, p. 787–790, 2010.

Bueno, M. I. M. S. Desenvolvimento de métodos analíticos usando espectrometria de raios X e quimiometria. **Tese** (Doutorado em Química Analítica), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, SP, 2007.

Buosso, M. C.; Ceccato, D.; Moschini, G.; Bernardini, D.; Testoni, S.; Torboli, A.; Valdes, M. Assessment of serum selenium levels in 2-month-old sucking calves using total reflection X-ray fluorescence technique. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 56, p.2181-2186, 2001.

Cariati, F.; Fermo, P.; Gilardoni, S. A new approach for archaeological ceramics analysis using total reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 58, p.177-184, 2003.

Cherkashina, T. Yu; Panteeva, S.V.; Pashkova, G.V. Applicability of direct total reflection X-ray fluorescence spectrometry for multielemental analysis of geological and environmental objects. **Spectrochimica Acta Part B**, v.99, p.59-66, 2014.

Cinosi, A.; Andriollo, N.; Pepponi, G.; Monticelli, D. A novel total reflection X-ray fluorescence procedure for the direct determination of trace elements in petrochemical products. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 399, p.927–933, 2011.

Costa, A. C. M. Desenvolvimento e caracterização de um sistema portátil de fluorescência de raios-X por reflexão total. **Tese** (Doutorado em Engenharia Nuclear), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rj, 2014.

Dhara,S.; Misra, N.L. Application of total reflection X-ray fluorescence spectrometry for trace elemental analysis of Rainwater. **Pramana**, v. 76, p. 361–366, 2011.

De La Calle, I.; Cabaleiro, N.; Romero, V.; Lavilla, I.; Bendicho, C. Sample pretreatment strategies for total reflection X-ray fluorescence analysis: A tutorial review. **Spectrochimica Acta Part B**, v.90, p.23-54, 2013.

De La Calle, I.; Costas, M.; Cabaleiro, N.; Lavilla, I.; Bendicho, C. Use of high-intensity sonication for pre-treatment of biological tissues prior to multielemental analysis by total reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 67, p. 43–49, 2012.

Ferreira, M. O. M. Determinação de componentes inorgânicos em plantas medicinais, comercializadas em formas de pó (cápsulas) e “in natura”, utilizando a técnica de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) definição de perfis inorgânicos quantitativos. **Dissertação** (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais), Instituto de pesquisa energéticas, São Paulo, SP, 2004.

Ferri, R.; Donna, F.; Smith, D. R.; Guazzetti, S.; Zacco, A.; Rizzo, L.; Bontempi, E.; Zimmerman, N. J.; Lucchini, R. G. Heavy metals in soil and salad in the proximity of historical ferroalloy emission. **Journal of Environmental Protection**, v.3, p. 374-385, 2012.

Fittschen, U.E.A.; Meirer, F.; Strel, C.; Wobrauschek P., Thiele, J.; Falkenberg G.; Pepponi, G. Characterization of atmospheric aerosols using Synchrotron radiation total reflection X-ray fluorescence and Fe K-edge total reflection X-ray fluorescence-X-ray absorption near-edge structure. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 63, p.1489–1495, 2008.

Gierat-Kucharzewska,B.; Braziewicz, j.; Majewska, U.; Goz´dz´, S.; Karasin´ ski, A. **Biol. Trace Elem. Res.** v.96, p. 159, 2003.

Greaves, E.D., Marco Parra, L.M., Rojas A., and Sajo-Bohus, L., **X-Ray Spectrom.**, v.29, p. 349, 2000.

Guimarães D.; Carvalho, M.L.; Becker, M.; Von Bohlen A.; Geraldés, V.;I. Rocha, Santos, J.P. Lead concentration in feces and urine of exposed rats by X-ray fluorescence and electrothermal atomic absorption spectrometry. **X-Ray Spectrometry**, v. 41, p.80–86, 2012.

Hatzistavros, V.S.; Kallithrakas-Kontos, N.G. Determination of trace perchlorate concentrations by anion-selectivemembranes and total reflection X-ray fluorescence analysis. **Anal. Chem.**, v.83, p.3386–3391, 2011.

Hatzistavros, V.S.; Koulouridakis, P.E.; Aretaki, I.I.; Kallithrakas-Kontos, N.G. Bromate determination in water after membrane complexation and total reflection X-ray fluorescence analysis. **Anal. Chem.**, v.79, p.2827–2832, 2007.

Huhnerfub, K.; Bohlen, A.; Kurth, D. Characterization of pigments and colors used in ancient Egyptian boat models. **Spectrochimica Acta Part B**, v.61, p. 1224-1228, 2006.

Karjou, J. Matrix effect on the detection limit and accuracy in total reflection fluorescence analysis of trace elements in environmental and biological samples. **Spectrochimica Acta Part B**, v.62, p.177-181, 2007.

Klockenkamper, R.; Von Bohlen, A. Worldwide distribution of total reflection X-ray fluorescence instrumentation and its different fields of application: A survey. **Spectrochimica Acta Part B**, v.99, p.133-137, 2014.

Klockenkamper, R.; Von Bohlen, A. Total reflection X-ray fluorescence moving towards nanoanalysis: a survey. **Spectrochimica Acta Part B**, v.56, p.2005-2018, 2001.

Klockenkamper, R.; Von Bohlen, A. Elemental analysis of environmental samples by total reflection X ray fluorescence: a Review. **X ray Spectrometry**, v. 25, p. 156-162, 1996.

Kropf, U.; Korošec, M.; Bertoneclj, J.; Ogrinc, N.; Necemer, M.; Kump, P.; Golo, T. Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. **Food Chemistry**, v. 121, p. 839–846, 2010.

Khuder, A.; Sawan, M. Kh.; Karjou, J.; Razouk, A.K. Determination of trace elements in Syrian medicinal plants and their infusions by energy dispersive X-ray fluorescence and total reflection X-ray fluorescence. **Spectrochimica Acta Part B**, v.64, p.721-725, 2009.

Kump, P. Some considerations on the definition of the limit of detection in X-ray fluorescence spectrometry, **Spectrochimica Acta Part B**, v.52, p. 405-408, 1997.

Kunimura, S.; Kawai, J. Application of a portable TXRF spectrometer to determine trace amounts of toxic elements. **Adv. X-Ray Anal.**, v. 53, p.180–186, 2010.

Lopes, W. D.; Santelli, R. E.; Oliveira, E. P.; de Carvalho, M. D. B.; Bezerra, M. A. Application of multivariate techniques in the optimization of a procedure for the determination of bioavailable concentrations of Se and As in estuarine sediments by ICP OES using a concomitant metals analyzer as a hydride generator. **Talanta**, v.79, p. 1276-1282, 2009.

Magalhães, T.; Von Bohlen, A.; Carvalho, M.L.; Becker, M. Trace elements in human cancerous and healthy tissues from the same individual: a comparative study by TXRF and EDXRF. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 61, p. 1185–1193, 2006.

Mapelli, M.; Muhleisen, M.; Persico, G.; van Der Zandt, H.; Tucker, P.A. The 60-residue C-terminal region of the single-stranded DNA binding protein of herpes simplex virus type 1 is required for cooperative DNA binding. **Journal of Virology**, v. 74, pp.8812-8822, 2000.

Margui, E.; Zawisza, B.; Sitko, R. Trace and ultratrace analysis of liquid samples by X-ray fluorescence spectrometry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 53, p. 73-83, 2014.

Margui, E.; Queralt, I.; Hidalgo, M. Application of X-ray fluorescence spectrometry to determination and quantification of metals in vegetal material. **Trends in Analytical Chemistry**, v.28, p.363-372, 2009.

Martinez, T.; Lartigue, J.; Avila-Perez, P.; Zarazua, G.; Cabrera, L.; Tejada, S.; Ramirez, A. Determination of lead in blood by TXRF and its correlation to environmental lead. **Nuclear Instruments & Methods In Physics Research Section B-Beam Interactio**, v.213, pp.584-589, 2004.

Martinez, T.; Lartigue, J.; Avila-Perez, P.; Zarazua, G.; Navarrete, M.; Tejeda, S.; Ramirez, A. Determination of trace elements in blood samples by TXRF analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 259, p. 511-514, 2004.

Mertens, M.; Rittmeyer, C.; Kolbesen, B.O. Evaluation of the protein concentration in enzymes via determination of sulfur by total reflection X-ray fluorescence spectrometry, limitations of the method. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 56, p. 2157–2164, 2001.

Meyer, A.; Grotefend, S.; Gross, A.; Wätzig, H.; Ott, I. Total reflection X-ray fluorescence spectrometry as a tool for the quantification of gold and platinum metallodrugs: determination of recovery rates and precision in the ppb concentration range. **J. Pharm. Biomed. Anal.** v.70, p.713–717, 2012

Misra, N.L.; Varga, I.; Dhara, S.; Aggarwal, S.K. A novel approach for chlorine determination in acidic medium by total reflection x-ray fluorescence, **X-Ray. Spectrom.** v.38, p. 182–185, 2009.

Necemer, M.; Kosir, I.J.; Kump, P.; Kropf, U.; Jamnik, M.; Bertoneceli, J.; Ogrinc, N.; Golob, T. Application of total reflection X-ray spectrometry in combination with chemometric methods for determination of the botanical origin of Slovenian honey. **J. Agric. Food Chem.**, v.57, p.409–414, 2009.

Potts, P.J.; Webb, P.C. X Ray fluorescence spectrometry. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 44, p.251-296, 1992.

Parra, Lué-Merú, M.; Determination of total As in onion plants growing n contaminated substrates by total reflection X-ray fluorescence. **J. Radional. Nucl. Chem**, v.287, p.479-484, 2011.

Ribeiro, R. O. R.; Mársico, E. T.; Jesus, E. F. O.; Carneiro, C. S.; Júnior, C. A. C.; Almeida, E.; Filho, V. F. N. Determination of trace elements in honey from different regions in Rio de Janeiro state (Brazil) by total reflection X-ray fluorescence. **Journal of Food Science**, v. 79, p.1738-1742, 2014.

Rocha, C. R. Desenvolvimento de método para análise de leite por espectrometria de fluorescência de raios X por reflexão total. **Dissertação** (Mestrado em Química Analítica), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2015.

Szoboszlai, N.; Polgári, Z.; Mihucz, V.G.; Zárny, G. Recent trends in total reflection X-ray fluorescence spectrometry for biological applications. **Analytical Chimica Acta**, v. 633, p.1-18, 2009.

Stosnach, H. Analytical determination of selenium in medical samples, staple food and dietary supplements by means of total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B**, v. p.859–863, 2010.

Shaw, B. J.; Semin, D. J.; Rider, M.E.;Beebe, M.R Applicability of total reflection X-ray fluorescence (TXRF) as a screening platform for pharmaceutical inorganic impurity analysis. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v.63, p.151–159, 2012.

Taverniers, I.; De Loose, M.; Bockstaele, E.V.. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. **Trends in Analytical Chemistry**. v.23, n.8, p. 535 – 552, 2004.

Teixeira, L. S., Vieira, H. P., Windmüller, C. C., Nascentes, C.C. Fast determination of trace elements in organic fertilizers using a cup-horn reactor for ultrasound-assisted extraction and fast sequential flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v.119, p. 232 - 239, 2014.

Teixeira, L. S. Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de micronutrientes e contaminantes em fertilizantes orgânicos. **Tese** (Doutorado em Química Analítica), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2014.

Thompson, M.; Ellison, S. L.R.; Wood, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. IUPAC Technical Report. **Pure Appl. Chem**, v.74, p.835-855, 2002.

Toweet, E. K.; Shepherd, K. D.; Cadish, G. Quantification of total element concentrations in soils using total X-ray fluorescence spectroscopy (TXRF). **Science of the Total Environment**, p.463-464, 2013.

Varga, I. Iodine determination in dietary supplement products by TXRF and ICP-AES spectrometry. **Microchemical Journal**, v.85, p. 127–131, 2007.

Varga, I.; Szebeni, A.; Szoboszlai, N.; Kovács, B. Determination of trace elements in human liver biopsy samples by ICP-MS and TXRF: hepatic steatosis and nickel accumulation. **Anal. Bioanal. Chemistry**, v.383, p.476-482, 2005

Vázquez, C.; Custo, G.; Barrio, N.; Burucúa, J.; Boeykens, S.; Marte, F. Inorganic pigment study of the San Pedro Gonzalez Telmo Sibyls using total reflection X-ray fluorescence, **Spectrochimica Acta Part B**, v. 65, p.852–858, 2010.

Wobrauschek, P. Total reflection x-ray fluorescence analysis – a review, **X-ray Spectrometry**, v. 36, p.29-300, 2007.

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Capítulo 4 - Considerações Finais

Os métodos desenvolvidos neste trabalho se mostraram como potencial alternativa para monitoramento de macronutrientes, micronutrientes e contaminantes em tortas de oleaginosas a serem usadas como fertilizantes orgânicos, de acordo com os requisitos do MAPA.

Na primeira parte do trabalho, os resultados obtidos a partir da digestão ácida da amostra seguida da quantificação dos digeridos por ICP OES reafirmaram o bom desempenho desses procedimentos para análise de materiais vegetais.

Os estudos conduzidos a partir da análise de suspensão de materiais vegetais por TXRF mostraram resultados satisfatórios para a faixa de concentração avaliada, resguardada a limitação da técnica em determinar Cd em presença de K. Essa técnica permite a determinação rápida de quase todos os nutrientes e contaminantes previstos pela legislação, inclusive P, S e Cl. Os resultados obtidos para a análise de diferentes CRM (lodo de esgoto, folhas de vegetais e farinha de trigo) demonstram a habilidade da TXRF em analisar matrizes distintas. Contudo, entende-se que mais estudos devem ser conduzidos principalmente para avaliação de interferências de sobreposições espectrais.

Métodos analíticos multielementares rápidos e confiáveis, que permitam a determinação simultânea de nutrientes e contaminantes, promovem uma maior versatilidade no controle de qualidade do processo de produção dos fertilizantes.