

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

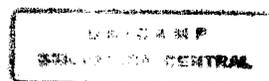
**EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA POR  
EMISSÃO EM PLASMA DE NUTRIENTES E  
ELEMENTOS TÓXICOS EM AMOSTRAS DE  
INTERESSE AGRONÔMICO**

**MÔNICA FERREIRA DE ABREU**

**TESE DE DOUTORADO**

**ORIENTADOR: PROF. DR. JOÃO CARLOS DE ANDRADE**

**1997**





UNIDADE	BC		
N.º CHAMADA:	UNICAMP		
	Ab.86e		
V.	Ex.		
TCMBO BC/	35012		
PROC.	395/98		
C	<input type="checkbox"/>	D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00		
DATA	11/09/98		
N.º CPD			

CM-00116521-4

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA  
UNICAMP**

A85e

Abreu, Mônica Ferreira

Extração e determinação simultânea por emissão em plasma de nutrientes e elementos tóxicos em amostras de interesse agrônômico. / Mônica Ferreira de Abreu. -- Campinas, [SP: s.n.], 1997.

Orientador: João Carlos de Andrade

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química.

1.\*Digestão de amostras. 2.\*ICP-AES. 3.\*Análise de plantas. 4.\*Análise de solos. 5.\*Análise de resíduos. I. Andrade, João Carlos. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

***Aos meus pais,  
João e Claudina***

***Ao meu marido  
Ylen***

***Ao meu filho  
Yuri***

***Dedico***

## **Agradecimentos**

- Ao Prof. Dr. João Carlos de Andrade, pela orientação, amizade e constante estímulo
- Ao Instituto de Química da UNICAMP
- À Seção de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas do Instituto Agrônômico de Campinas
- Ao CNPq e à CAPES, pelas bolsas concedidas
- À FAPESP, pelo auxílio recebido
- À Dra. Cleide Aparecida de Abreu, pela colaboração nos trabalhos, pela correção dos manuscritos e principalmente pela grande amizade
- Ao Dr. Ronaldo S. Berton, pela ajuda na parte dos resíduos
- Aos amigos da Seção de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, que direta ou indiretamente colaboraram na realização desta tese
- À Jussara M. Vieira, Renata Presta, Irani F. F. Zanini, Tereza Biondi e Cláudio Cuelbas, pela colaboração
- À Dra. Angela M. C. Furlani, pela revisão do abstract
- Aos funcionários das bibliotecas do IQ e do IAC
- À toda a minha família, pela paciência e colaboração

**Este trabalho de tese foi financiado pelo projeto temático  
"Micronutrientes e metais tóxicos na agricultura"  
(FAPESP 90/3647-1)**

## Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar processos de extração de nutrientes e elementos tóxicos em amostras de solo, plantas e resíduos usando a técnica de espectrometria de emissão atômica em plasma de argônio acoplado indutivamente (ICP-AES). A etapa crítica das análises químicas, com o uso do ICP-AES, se resume aos processos de extração ou de dissolução das amostras. No caso de solos, o boro era um dos micronutrientes mais problemáticos. O método mais utilizado para a extração de boro para o diagnóstico da sua disponibilidade às plantas, é o refluxo em água, que é tedioso e exige cuidados especiais. Um procedimento de extração alternativo foi desenvolvido nesta tese, usando um forno de microondas doméstico e uma solução extratora de  $\text{BaCl}_2$ . Boa correlação ( $r^2=0.960$ ) foi obtida para as 13 amostras de solo processadas pelo método de refluxo em água e o método proposto, usando ICP-AES. A quantificação por ICP-AES também não diferiu significativamente do método espectrofotométrico ( $r^2=0.980$ ). O método de extração por microondas tornou-se oficial no Estado de São Paulo, a partir de 1994.

Os estudos envolvendo a digestão de amostras de plantas podem ser feitos por via seca ou por via úmida, com aquecimento por condução ou por microondas sob pressão. Como os resultados encontrados na literatura, em geral, são inconsistentes entre si, foi necessário estabelecer uma rotina própria para fins de diagnose foliar. Para tal foram utilizadas uma amostra padrão certificada NIES ("National Institute for Environmental Studies - Japan Environmental Agency") e quatro amostras do programa "International Plant-Analytical Exchange" (IPE) e os elementos determinados por ICP-AES foram: Al, B, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S e Zn. Os resultados obtidos com a digestão com os ácidos nítrico-perclórico ( $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ ) foram os que apresentaram maior variabilidade nas amostras estudadas e os valores mais discrepantes foram para o Na (148%) e o B (326%). A via seca por sua vez, apresentou resultados relativamente bons, com exceção do Na (583%), B

(236%) e S (54%). A metodologia que emprega o forno de microondas produziu resultados mais reprodutíveis para a maioria dos elementos, mas esse procedimento exige cuidados especiais que dificultam sua aplicação em trabalhos de rotina. O método da via seca foi o escolhido para as análises de rotina no Laboratório de Análise de Plantas e Solos do IAC, enquanto que o método de digestão em microondas é utilizado apenas nas análises que requeiram resultados mais precisos.

Quanto à análise de resíduos, foram comparados três procedimentos por via úmida: (1) sistema aberto usando a mistura  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ , (2) sistema fechado em forno de microondas usando  $\text{HNO}_3$  (método oficial da EPA 3051) e (3) sistema fechado em forno de microondas usando água-régia. Foram utilizadas amostras de resíduos de diferentes procedências, tais como composto de lixo urbano, lodo de esgoto, esterco de animais e uma amostra certificada de sedimento de lagoa. Os elementos determinados por ICP-AES foram Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn. O método de digestão com água-régia apresentou as maiores recuperações, sendo superior a 90% para Fe, Mn, Cu, Pb, Zn e Cd, 76% para Ni e 61% para Cr. Esse procedimento também extraiu quantidades maiores para Fe, Mn, Zn e Cr nos compostos de lixo municipal, no lodo de esgoto e no esterco de suíno, quando comparado aos outros métodos. Este estudo foi tomado como base pela CETESB ("Companhia de Tecnologia de Saneamento Básico") para a preparação da legislação sobre a aplicação de lodos de tratamento biológico em áreas agrícolas.

## Abstract

The objective of this study was to evaluate chemical elements extraction processes for soil, plant and residue analysis by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) technique. The critical step of the chemical analysis using the ICP-AES technique, is the sample extraction or dissolution. In the case of soil analysis, boron was a troublesome micronutrient. Hot water is the most widely extractor used for boron extraction in soils for the diagnosis of the nutrient availability. This procedure is tedious and requires some especial cares. An alternative procedure was developed in this thesis using a domestic microwave oven and  $\text{BaCl}_2$  as extraction solution. Good correlation ( $r^2=0.960$ ) was found between the extraction by boiling water and the proposed method, for 13 soils, using ICP-AES. The B contents determined by ICP-AES did not significantly differ from those obtained by spectrophotometric method ( $r^2=0.980$ ). The microwave method is the official procedure for soils of the State of São Paulo (Brazil), since 1994.

Plant digestion may be performed by dry ashing or wet digestion, using heating by conduction or microwave. Since results in the literature for sample digestion are, in general, not consistent, it was necessary to establish a proper routine for plant analysis and nutrient diagnosis. Four samples from International Plant-Analytical Exchange (IPE) program and one NIES (National Institute for Environmental Studies - Japan Environmental Agency) certified reference material were used and the elements Al, B, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S e Zn were analyzed by ICP-AES. The results obtained with the  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  digestion method presented higher variability for the element contents in the samples studied; Na and B showed the largest range of variation (148% and 325%, respectively). The dry ashing method presented relatively better results, except for Na (583%), B (236%) and S (54%). The results with the microwave digestion method were more consistent and reproducible for most elements, but this procedure requires special cares for routine analysis. The dry ashing was chosen for routine analysis in the Plant

and Soil Laboratory of Instituto Agronômico, nevertheless the microwave method is used for special analysis, when more precision is required.

Three procedures for the digestion of residues were compared; (1) open system using  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ , (2) closed system in microwave oven using  $\text{HNO}_3$  (EPA-3051 method) and (3) closed system in microwave oven using *aqua-regia*. Urban domestic wastes, swine and dairy manure and NIES sediment certified reference material were used as samples. All extractions were analyzed for Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn by ICP-AES. Microwave digestion with *aqua-regia* extracted higher amounts of metals, with recoveries greater than 90% for Fe, Mn, Cu, Pb, Zn and Cd, 76% for Ni and 61% for Cr. This procedure also presented higher amounts of Fe, Mn, Zn and Cr for the municipal waste compost, the sewage sludge and for the swine manure, when compared with other methods. The CETESB (“Companhia de Tecnologia de Saneamento Básico”) legislation for the application of biologically treated sludge in agricultural areas was based in these studies.

## ÍNDICE GERAL

<b>I. INTRODUÇÃO</b>	1
I.1. OBJETIVOS	4
<b>II. O TRATAMENTO DAS AMOSTRAS</b>	6
II.1. A ANÁLISE DE SOLOS	8
A Extração e a Determinação de Boro em Solos	10
II.2. A ANÁLISE DE PLANTAS	12
O Procedimento da Via Seca	16
O Procedimento da Via Úmida	17
II.3. A ANÁLISE DE RESÍDUOS APLICÁVEIS À AGRICULTURA	24
II.4. A TEORIA E OS EQUIPAMENTOS DE MICROONDAS	28
Teoria sobre as Microondas	29
O Equipamento de Microondas e os Acessórios	30
<b>III. A TÉCNICA DE ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA</b>	33
Nomenclatura Utilizada	33
III.1. CONCEITOS BÁSICOS E TEORIA	34
III.2. O INSTRUMENTAL ANALÍTICO PARA UM ESPECTRÔMETRO ICP	36
O Princípio de Funcionamento de um Espectrômetro ICP	37
Sistema Óptico de Dispersão e Detecção	40
Sistema de Introdução da Amostra	47
III.3. INTERFERÊNCIAS POSSÍVEIS EM UM ICP-AES	53
III.4. CÁLCULO DO LIMITE DE DETECÇÃO PARA UM ICP-AES	56
<b>IV. MATERIAL E MÉTODOS</b>	59
IV.1. SOLUÇÕES	59

<b>IV.2. INSTRUMENTAL</b>	<b>60</b>
Calibração do Forno de Microondas	62
<b>IV.3. EXTRAÇÃO DE BORO DO SOLO</b>	<b>63</b>
Métodos de Extração de Boro	64
Métodos de Determinação de Boro	65
Análise Estatística	65
<b>IV.4. ANÁLISE DE PLANTAS</b>	<b>66</b>
Métodos de Digestão	67
Determinação dos Elementos nos Extratos de Planta	68
Análise Estatística	68
<b>IV.5. ANÁLISE DE RESÍDUOS</b>	<b>69</b>
Métodos de Digestão	69
Determinação dos Elementos nos Extratos de Resíduos	72
Análise Estatística	72
<b>V. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>73</b>
<b>V.1. O AJUSTE DOS PARÂMETROS DO ICP-AES</b>	<b>73</b>
<b>V.2. A EXTRAÇÃO E A DETERMINAÇÃO DE BORO EM SOLOS</b>	<b>76</b>
<b>V.3. ANÁLISE DE PLANTAS</b>	<b>84</b>
<b>V.4. ANÁLISE DE RESÍDUOS</b>	<b>100</b>
<b>V.II. CONCLUSÕES</b>	<b>106</b>
<b>V.I. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>108</b>
<b>APÊNDICE I</b>	<b>117</b>
<b>APÊNDICE II</b>	<b>120</b>
<b>APÊNDICE III</b>	<b>130</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura II.1:</b> Curva esquemática de desenvolvimento de uma cultura em função da concentração de um nutriente na planta.	13
<b>Figura II.2:</b> Descrição dos componentes básicos de um forno de microondas comercial para digestão de amostra.	31
<b>Figura III.1:</b> Diagrama de blocos correspondente às etapas de uma análise por espectrometria de emissão atômica. As descrições listadas abaixo de cada bloco indicam as variações possíveis dentro da etapa.	37
<b>Figura III.2:</b> (a) corte transversal de uma tocha de um equipamento ICP-AES com as descrições das correntes e linhas de força e (b) vista superior da tocha com o esquema para introdução de gases.	39
<b>Figura III.3:</b> Esquema da distribuição de temperatura em um plasma de argônio. Os valores são temperaturas aproximadas dadas em graus.	41
<b>Figura III.4:</b> Montagem óptica de um equipamento simultâneo do tipo "Paschen Runge", usando a geometria de um círculo de "Rowland".	44
<b>Figura III.5:</b> Montagem óptica de um sistema "Czerny Turner" para um espectrômetro seqüencial.	45
<b>Figura III.6:</b> Esquema básico de um espectrômetro de emissão atômica simultâneo.	46
<b>Figura III.7:</b> Etapas correspondentes à introdução de amostra até o processo de emissão atômica.	48
<b>Figura III.8:</b> Desenho de um nebulizador tipo ultra-sônico.	49
<b>Figura III.9:</b> Diagrama esquemático de alguns nebulizadores pneumáticos. (a) concêntrico, tipo "Meinhard"; (b) fluxo cruzado "cross-flow"; (c) "Babington" e (d) "V-groove".	51
<b>Figura III.10:</b> Montagem de um sistema de introdução de amostra do equipamento JY 50P, composta de um nebulizador, uma câmara de nebulização ("Scott"), um tubo para drenagem e a tocha.	53
<b>Figura V.1:</b> Correlação entre o método de refluxo em água (referência) e os métodos de extração com aquecimento em microondas, usando água ou solução de BaCl <sub>2</sub> . Todas as determinações de boro em todos os extratos foram feitas por ICP-AES.	79

- Figura V.2:** Correlações entre o método de determinação de boro por espectrofotometria (método de referência) e por ICP-AES, utilizando os procedimentos de extração por refluxo em água (referência) e por microondas com água e com solução de BaCl<sub>2</sub>. 80
- Figura V.3:** Correlação entre o método de referência, refluxo em água e determinação por espectrofotometria e os métodos de extração com aquecimento em microondas, usando água ou solução de BaCl<sub>2</sub> e determinação de boro por ICP-AES. 81
- Figura V.4:** Comportamento da pressão interna do frasco controlador do forno de microondas (CEM MDS 2000) em função do tempo programado, para a digestão de plantas, usando o método da via úmida com aquecimento por microondas proposto. 98

## ÍNDICE DE QUADROS

<b>Quadro II.1:</b> Concentrações máximas limites para composto de lixo em alguns países europeus.	27
<b>Quadro II.2:</b> Concentrações máximas limites para lodo de esgoto permitido pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América e por alguns países europeus. Os dados não listados significa que não foram encontrados.	27
<b>Quadro III.1:</b> Principais vantagens e desvantagens do sistema ICP-AES	42
<b>Quadro IV.1:</b> Especificações e parâmetros de operação do sistema ICP-AES	61
<b>Quadro IV.2:</b> Comprimentos de onda utilizados no ICP-AES para os elementos determinados nos extratos de plantas e solos.	62
<b>Quadro IV.3:</b> Descrição do tipo de material vegetal das amostras de plantas utilizadas neste estudo, de acordo com Houba e Uittenbogaard (1994).	66
<b>Quadro IV.4:</b> Programação utilizada no forno de microondas CEM para método de digestão de plantas por via úmida em microondas.	68
<b>Quadro IV.5:</b> Programação do forno de microondas CEM para a digestão de resíduos pelo método EPA-3051.	70
<b>Quadro IV.6:</b> Etapas de programação do forno de microondas CEM para a digestão de resíduos utilizado para o método da água-régia.	71
<b>Quadro V.1:</b> Resultados para alguns elementos em duas amostras de plantas digeridas pelo método da via seca com determinações feitas por ICP-AES comparando-se os nebulizadores "V-groove" e "Meinhard". Todos os valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de três repetições.	75
<b>Quadro V.2:</b> Valores dos limites de detecção para os procedimentos avaliados nas análises de plantas e resíduos. Todas as determinações foram feitas no ICP-AES JY-50P, com o nebulizador "V-groove", empregando as condições descritas nos quadros IV.1 e IV.2.	77

<b>Quadro V.3:</b> Quantidade de boro extraído pelos procedimentos refluxo em água, solução de cloreto de bário em microondas e água em microondas. Valores médios de três replicatas.	82
<b>Quadro V.4:</b> Comparação dos teores certificados dos elementos da amostra “pepperbush” do NIES, com os determinados pelos métodos de digestão em microondas, por via seca e por via úmida com os ácidos nítrico e perclórico	86
<b>Quadro V.5:</b> Comparação dos valores das medianas ou dos valores certificados para os elementos da amostra do programa IPE-883, com os resultados obtidos pelos métodos de digestão em microondas, por via seca e por via úmida com os ácidos nítrico e perclórico	87
<b>Quadro V.6:</b> Comparação dos valores das medianas ou dos valores certificados para os elementos da amostra do programa IPE-875, com os resultados obtidos pelos métodos de digestão em microondas, por via seca e por via úmida com os ácidos nítrico e perclórico	88
<b>Quadro V.7:</b> Comparação dos valores das medianas para os elementos da amostra do programa IPE-996, com os resultados obtidos pelos métodos de digestão em microondas, por via seca e por via úmida com os ácidos nítrico e perclórico	89
<b>Quadro V.8:</b> Comparação dos valores das medianas para os elementos da amostra do programa IPE-767, com os resultados obtidos pelos métodos de digestão em microondas, por via seca e por via úmida com os ácidos nítrico e perclórico	90
<b>Quadro V.9:</b> Resumo das características dos métodos utilizados nessa tese para a digestão de plantas para fins da diagnose nutricional.	99
<b>Quadro V.10:</b> Resultados obtidos para o sedimento “Pond Sediment” com os extratores água-régia, ácido nítrico (USEPA) e ácidos nítrico e perclórico e os valores certificados dados pelo NIES (1981).	102
<b>Quadro V.11:</b> Resultados analíticos encontrados para os resíduos orgânicos após os diferentes procedimentos para extração	104
<b>Quadro A.1:</b> Concentrações das soluções coquetel e de trabalho utilizadas para calibração do espectrômetro ICP-AES, para os diferentes métodos estudados.	118
<b>Quadro A.2:</b> Resultados da concentração de ferro na amostra de lodo de esgoto utilizando os diferentes métodos estudados.	125

---

## I. INTRODUÇÃO

---

A agricultura é uma das mais antigas práticas de relação entre o Homem e a natureza. Ao longo dos tempos novos conhecimentos, técnicas e práticas foram sendo incorporados, e o homem aprendeu a viver com a terra, respeitar seus ciclos, seu clima, suas exigências, mesmo que muitas vezes não compreendesse a razão delas. E aprendeu, muitas vezes, a mudar de forma positiva a natureza. Esses conhecimentos acumulados é que permitiram ao homem retirar seu sustento por muitos séculos.

A partir do início deste século os resultados dos estudos da química e da bioquímica desvendaram o papel dos nutrientes básicos no crescimento das plantas. Assim como os seres humanos dependem das plantas para sua alimentação, as plantas dependem dos nutrientes minerais do solo para seu desenvolvimento. Diversos elementos químicos são indispensáveis à vida das plantas. Esses elementos são considerados essenciais pois na ausência de qualquer um deles, a planta não consegue completar seu ciclo de vida ou não consegue produzir sementes viáveis para reprodução. Os elementos essenciais carbono, oxigênio e hidrogênio, provenientes da água e ar, constituem cerca de 90% do peso da matéria seca. Os demais nutrientes constituem em peso seco cerca de 10%. Apesar das pequenas quantidades dos minerais, eles são fundamentais para a formação dos compostos C-H-O, que são a base da matriz para o desenvolvimento e crescimento da planta. Os elementos: nitrogênio, potássio, fósforo, enxofre, cálcio e magnésio são derivados do solo e utilizados pelas plantas em teores relativamente altos e são, portanto, denominados

macronutrientes; dentre estes o nitrogênio, o fósforo e o potássio são classificados como macronutrientes primários e o enxofre, o cálcio e o magnésio, como secundários. Esses elementos são constituintes de componentes das plantas como proteínas, ácidos nucleicos e clorofila e são essenciais aos processos de transferência de energia, manutenção da pressão osmótica interna e funcionamento das enzimas. Outros nutrientes são requeridos em menor quantidade e referidos como micronutrientes: os cátions ferro, manganês, zinco, cobre, bem como os ânions boro (como borato), molibdênio (como molibdato) e cloro (como cloreto). Esses elementos por sua vez apresentam uma variedade de funções essenciais no metabolismo das plantas e são, em sua maioria, constituintes de enzimas. As principais funções em que os micronutrientes atuam nas plantas são as seguintes: o borato no transporte de carboidratos e coordenação com fenóis; o cloreto na fotossíntese; o ferro atua em enzimas e como transportador de elétrons; o manganês na fotossíntese e no metabolismo do ácido carboxílico; o molibdato na fixação do nitrogênio e na redução do nitrato e finalmente o zinco nas enzimas (Hewitt e Smith, 1975). Alguns elementos como o sódio, o silício, o vanádio, o cobalto e o níquel não são considerados essenciais, no entanto são comprovadamente benéficos a determinadas plantas. Comumente os macronutrientes e os micronutrientes, por terem origem no solo, são designados como nutrientes minerais e de suma importância à nutrição das plantas.

A análise química inorgânica de plantas e solos é usada com o objetivo de diagnosticar possíveis deficiências ou toxidez de nutrientes em plantas e avaliar a fertilidade do solo. Atualmente, essas análises são também úteis nos estudos dos processos metabólicos das plantas e no monitoramento ambiental de possíveis elementos tóxicos como o chumbo, o cádmio, o mercúrio, o cromo e outros, que podem estar acumulados nas plantas ou solos em consequência da poluição ambiental ou pela deposição de fertilizantes, agrotóxicos e resíduos domésticos e industriais.

A deposição de resíduos domésticos e industriais nos solos, com o objetivo de melhorar as condições do solo para cultivo, tem crescido muito nos últimos anos. Apesar dos aspectos favoráveis com relação à preservação do meio

ambiente, existe a possibilidade de se encontrar altos teores de metais. Se o solo for contaminado, ele permanecerá assim por um longo tempo, pois os processos de descontaminação são, em geral, bastante complexos e lentos (Grossi, 1993). Além do meio ambiente, pode-se colocar em risco a saúde humana devido à propagação dos poluentes para os diferentes níveis da cadeia alimentar. Assim, a necessidade de se avaliar os teores dos elementos químicos, principalmente os metais considerados tóxicos, nesses resíduos, antes de aplicá-los ao solo, é de suma importância.

O desenvolvimento da instrumentação analítica trouxe vantagens substanciais à análise de solos, plantas e outros materiais, como a precisão, a diminuição nos valores dos limites de detecção, a rapidez nas determinações analíticas e outros. Um dos impactos mais marcantes dentro da análise instrumental foi o desenvolvimento dos espectrômetros de absorção atômica, sendo hoje uma das técnicas mais bem estabelecidas e predominantes nos laboratórios de análise quantitativa. Essa técnica vem sendo substituída pela espectrometria de emissão atômica por plasma de argônio com acoplamento indutivo (ICP-AES), que tem se mostrado mais eficiente por possibilitar análises multielementares com uma faixa analítica de trabalho mais ampla, dispensando diluições, e com limites de detecção iguais ou melhores que a absorção atômica, sendo praticamente isenta de interferências espectrais. Além dessas vantagens, a espectrometria de emissão também permite as determinações de elementos não metais como: o fósforo, o boro e o enxofre, os quais normalmente são determinados por espectrofotometria (fósforo e boro) e por turbidimetria (enxofre) e cujos procedimentos são lentos e passíveis de interferências.

Embora os equipamentos de instrumentação analítica venham sofrendo constantes avanços tecnológicos, a dissolução das amostras continua sendo um dos desafios mais antigos dos químicos analíticos, remontando aos alquimistas. Pela dificuldade de se trabalhar com sólidos, a maioria dos instrumentos requerem amostras na forma líquida. Desta forma uma amostra sólida necessita passar por uma seqüência analítica que envolve métodos químicos e físicos para transformá-la em uma solução. Alguns equipamentos vêm sendo introduzidos durante a etapa de digestão com o objetivo de agilizá-la, sendo o caso dos fornos

de microondas que provocam um aquecimento mais efetivo nos procedimentos por via úmida em relação ao aquecimento por condução térmica. Esse equipamento tem sido utilizado em procedimentos para a digestão de diferentes tipos de materiais e cada vez mais os químicos estão se familiarizando com esta técnica. Durante o desenvolvimento desta tese procurou-se trabalhar com essa nova técnica, para avaliar as possibilidades de empregá-la em análises de rotina para solos, plantas e resíduos e determinação por ICP-AES.

## **I.1 OBJETIVOS**

O objetivo desta tese foi avaliar processos de extração de nutrientes e elementos tóxicos em solos, plantas e resíduos aplicáveis à agricultura, usando a técnica de espectrometria de emissão atômica em plasma de argônio acoplado indutivamente, visando à aplicação em análises de rotina.

**1. Amostras de Solo:** A análise dos micronutrientes disponíveis é ainda hoje pouco utilizada, devido principalmente à não uniformidade dos métodos de extração. Um dos problemas observados se refere ao método de extração do boro disponível, que não é adequado às análises de rotina. Assim, procurou-se desenvolver um procedimento aplicável às condições de rotina dos laboratórios, utilizando aquecimento assistido por microondas. Para a quantificação do boro no extrato estudaram-se as opções: por ICP-AES e por espectrofotometria no visível.

**2. Amostras de planta:** Com relação às análises de plantas, normalmente as amostras necessitam de uma digestão completa e existem na literatura diferentes procedimentos descritos para a dissolução. Como parte deste trabalho procurou-se otimizar, adequar e avaliar três diferentes métodos de digestão que proporcionassem a determinação do maior número de elementos pela técnica multielementar de ICP-AES. Os métodos escolhidos

foram aqueles mais empregados em laboratórios de rotina: o procedimento por via seca, por via úmida, e o terceiro foi também por via úmida, porém foi desenvolvido sob pressão e aquecimento por microondas. A ênfase deste estudo foi verificar as vantagens e desvantagens da aplicação dos métodos visando à determinação por ICP-AES, o uso em laboratório de rotina, a precisão dos métodos e a interpretação dos dados para fins agronômicos.

**3. Amostras de resíduo aplicável à agricultura:** Por último, foram também avaliados três diferentes métodos de digestão para resíduos, visando à determinação por ICP-AES principalmente dos micronutrientes e alguns elementos tóxicos. Pela não uniformidade das amostras de resíduos procurou-se trabalhar com diferentes materiais oriundos de diferentes fontes. Os materiais mais comuns, e portanto empregados neste estudo, foram: composto de lixo, lodo de esgoto e esterco. Os métodos escolhidos foram: um método convencional, empregando a mistura dos ácidos nítrico e perclórico; e dois métodos que utilizam aquecimento por microondas em sistemas fechados sob pressão, sendo um deles o procedimento padrão da EPA (Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos da América) com ácido nítrico e o outro procedimento empregando digestão com água régia.

Como a medida instrumental é dependente da matriz e da concentração dos elementos presentes, diversos fatores podem influenciar as determinações. Assim sendo todas as condições do equipamento de ICP-AES utilizado neste estudo foram ajustadas e adequadas da maneira a mais geral possível, procurando manter o maior rendimento para o maior número de elementos, sem que se perdesse a consistência e precisão dos resultados.

---

## II. O TRATAMENTO DAS AMOSTRAS

---

Para o desenvolvimento de uma análise química necessita-se de uma seqüência analítica, que se constitui de diversas etapas. Normalmente as principais etapas envolvidas em uma seqüência analítica são as seguintes:

- *Definição do problema*
- *Escolha do método*
- *Amostragem*
- *Tratamento da amostra*
- *Medida*
- *Calibração*
- *Avaliação*
- *Ação*

No caso específico deste trabalho, que envolve a análise química de plantas, solos e resíduos aplicáveis à agricultura para fins de fertilidade, algumas etapas da seqüência analítica já estão bem estabelecidas na literatura e não serão discutidas aqui.

Atualmente o crescente desenvolvimento dos instrumentos, automação e processadores de dados, tem agilizado muito a obtenção dos dados analíticos. No entanto, a etapa da dissolução das amostras ainda é a fase mais laboriosa e que necessita de muito tempo para ser cumprida de forma quantitativa e reprodutiva.

A etapa do tratamento da amostra inclui os processos físicos, como a lavagem do material sólido, quando possível, a secagem a uma determinada temperatura, cuidando-se para que não haja mudanças biológicas e químicas, a redução e a homogeneização das partículas e finalmente a estocagem. Esses passos podem ser alterados ou mesmo não executados dependendo do material. O passo subsequente é o tratamento químico, ou seja a conversão da amostra sólida para a forma de solução. Para isso, alguns processos como a digestão, a dissolução, a extração, a pré-concentração ou mesmo qualquer outro tratamento necessário para homogeneização da amostra, são empregados (Hwang e Wang, 1995). A etapa que envolve a preparação física e química da amostra pode apresentar erros bastante grandes, da ordem de 100 a 300%, segundo Makert (1995). E de acordo com Knapp (1982), citado por Makert (1993), os erros sistemáticos que envolvem os métodos de decomposição podem ser causados por:

1. Contaminações:
  - do ar ambiente (sujeira, pó, vapor, etc.),
  - pela adição de reagentes contaminados (ácidos),
  - de impurezas dos recipientes usado na decomposição.
2. Perdas:
  - por volatilização durante o processo,
  - pela absorção nas paredes do recipiente de decomposição,
  - por possíveis reações com o material do recipiente.
3. Decomposição incompleta.

Os erros citados acima podem, no entanto, ser eliminados ou minimizados escolhendo adequadamente o tipo de decomposição e tendo os seguintes cuidados: (i) procurar sempre utilizar reagentes os mais puros possíveis e em pequenas quantidades, (ii) os frascos para reação devem ser quimicamente inertes e lavados adequadamente, sem deixar sítios ativos para troca de íons, (iii) as contaminações podem ser evitadas minimizando o número de manipulações, (iv) evitar altas temperaturas nas etapas de tratamento e finalmente (v) manter a sala nas melhores condições possíveis de limpeza com o mínimo de poeira.

## II.1 A ANÁLISE DE SOLOS

O solo é a parte superficial intemperizada não consolidada da crosta terrestre. No solo os vegetais se desenvolvem e obtêm deste, através das raízes, os minerais e a água de que necessitam (Raij, 1991).

A composição do solo é extremamente diversa e embora seja governada por diferentes fatores, as condições climáticas e o material de origem são os que comumente predominam. Fisicamente o solo é um material composto por três fases: sólida (mineral e orgânica), líquida e gasosa e apresenta propriedades resultantes do equilíbrio físico-químico entre as fases. A fase sólida é pouco variável enquanto que as fases líquida e gasosa variam constantemente de acordo com as condições atmosféricas.

A fase mineral representa grande parte da fase sólida para a maioria dos solos, e é constituída de minerais provenientes do material de origem ou "rocha-mãe". O modo como os minerais estão distribuídos no perfil do solo e fracionados entre os componentes do solo são reflexos de vários processos como: a adição, a perda, a translocação ou a transformação dos materiais orgânicos e minerais do solo, bem como de fatores externos, provocados por práticas agrícolas, pela poluição e pelas intempéries.

A análise de solo pode ser feita de diferentes modos dependendo do objetivo a qual se destina. Normalmente para amostras ambientais ou geológicas, a análise deve ser conduzida para que se determine praticamente todos os elementos existentes, bem como o seu teor total (Israel e Barnes, 1990). Esse tipo de análise é denominada de análise química total e permite estudos sobre a gênese, evolução e caracterização do solo, como também do comportamento dinâmico de vários elementos.

Entretanto, do ponto de vista agrônômico, a análise deve ser feita com o objetivo de se avaliar as condições do solo em fornecer nutrientes às plantas, e também diagnosticar as faltas ou excessos de certos elementos que podem vir a prejudicar uma determinada cultura. O conceito que trata da capacidade do solo em fornecer nutrientes às plantas é designado como fertilidade do solo. Com os dados fornecidos pela análise química pode-se então alterar a fertilidade de um

solo com a adição de fertilizantes e corretivos agrícolas (Munter, 1990 e Peck, 1990).

O desenvolvimento de métodos de análise de solos para avaliação da fertilidade do solo foi inicialmente elaborada por Liebig por volta de 1840 e até 1920 pouco progresso foi feito (Peck e Soltanpour, 1990). Com a evolução dos conhecimentos da nutrição vegetal e das características do complexo coloidal do solo, particularmente os processos de adsorção e troca iônica, os métodos até então desenvolvidos empiricamente receberam a base teórica de que careciam.

Desde 1940, a análise de solo tem sido uma ferramenta essencial e indispensável para diagnosticar a fertilidade do solo e tem como principais objetivos: (i) determinar a disponibilidade dos nutrientes do solo, (ii) indicar com clareza ao agricultor a existência de deficiências ou toxidez de nutrientes para determinadas culturas, (iii) formular a necessidade de fertilizantes e (iv) expressar os resultados de maneira que permitam uma avaliação econômica entre o fertilizante recomendado e a produção prevista (Peck e Soltanpour, 1990).

Muitos são os métodos de extração existentes, entretanto para a seleção de um determinado método necessita-se de estudos regionais para avaliar qual o método que melhor se adapta às condições dos solos e que se correlacione com a resposta das plantas. A maioria das análises de solo para avaliação da disponibilidade de nutrientes consiste em agitar uma amostra de solo com uma solução extratora por um determinado período de tempo (Lopes e Carvalho, 1988). A solução extratora deve ser capaz de extrair quantidades proporcionais às formas disponíveis de um nutriente no solo, e a quantidade extraída deve ser mensurável e também se correlacionar com o crescimento de cada cultura (Tucker e Hight, 1990).

É muito difícil o desenvolvimento de novos métodos para esse fim e é praticamente impossível não encontrar na literatura algum método cujos princípios não tenham sido estudados. Com o objetivo de minimizar diferenças de resultados entre os diversos laboratórios de análise de solo, tem-se procurado uniformizar os métodos de extração em determinadas regiões do Brasil, para que os resultados possam ser comparadas entre si (Raij, 1991).

A análise de solo para fins de fertilidade é praticada em quase todas as partes do mundo. No Brasil, vem sendo utilizada desde o século passado, tendo como principal objetivo o diagnóstico da acidez do solo e a disponibilidade agrônômica dos macronutrientes, P, K, Ca e Mg (Abreu et al., 1994b).

Com relação à a disponibilidade dos micronutrientes no solo a análise é ainda muito incipiente e tem, até hoje, sua utilização bastante restrita. Isto porque as quantidades destes elementos exigidos pelas plantas são pequenas e as deficiências são, em geral, as últimas a se manifestarem em solos considerados férteis. Nas duas últimas décadas têm-se intensificado as pesquisas de métodos de extração para esses elementos.

Devido à baixa concentração, problemas como contaminações são mais freqüentes e podem ocorrer desde a amostragem com ferramentas inadequadas até a análise, devido ao uso de reagentes contaminados e técnicas analíticas impróprias.

A avaliação dos micronutrientes no solo é fundamental e o sucesso da análise está associado à escolha adequada do processo de extração utilizado. O problema do boro é um caso particular, ao qual se deu uma atenção especial nesse trabalho.

### ***A Extração e a Determinação de Boro em Solos.***

O micronutriente boro é um elemento móvel no solo, aparece em teores variados e não se encontra uniformemente distribuído na crosta terrestre. Em soluções de solo a forma mais provável é a do ácido bórico  $H_3BO_3$ . Esse ácido é muito fraco, com  $pK_1$  de 9,24 e acima de pH 7 pode ocorrer dissociação para a forma  $H_2BO_3^-$ .

O procedimento mais difundido e utilizado para diagnosticar a fito-disponibilidade do boro é o método da extração com água quente, introduzido por Berger e Troug (1939). Esse método tem consistentemente provado ser o mais adequado à estimativa do boro disponível (Reisenauer et al., 1973), inclusive no Brasil (Ribeiro e Tucunango Saradia, 1984 e Bataglia e Raij, 1990)

Normalmente, quando as quantidades de boro extraídas do solo pelo método da água quente são menores que  $0,3 \text{ mg dm}^{-3}$  de solo, considera-se o

solo deficiente para nutrir a cultura, enquanto que valores de boro maiores que  $3,0 \text{ mg dm}^{-3}$  de solo são considerados tóxicos (Lindsay e Cox, 1985). A faixa estreita entre deficiência e toxidez implica obviamente que o método de avaliação do boro deve ser o mais preciso possível para diagnosticar a disponibilidade do boro como nutriente do solo. A despeito do fato de o método de extração com água quente ser o mais apropriado para a avaliação do boro, o procedimento analítico é considerado tedioso.

As dificuldades deste método estão relacionadas à necessidade de vidrarias especiais isentas de boro, de difícil obtenção e alto custo; à dificuldade de análise em grandes quantidades; e à necessidade de estabelecimento de tempo preciso para aquecimento e resfriamento da suspensão de solo. Assim, mudanças na etapa de extração são desejáveis para tornar esse procedimento mais aplicável e atrativo às análises de rotina.

Uma das variações introduzidas por Mahler et al. (1984) foi substituir a vidraria por sacos plásticos e fazer o refluxo em béqueres com água, obtendo vantagens como a facilidade de manipulação, o baixo investimento e a melhor reprodutibilidade dos resultados.

Recentemente, a utilização das microondas como fonte de aquecimento passou a ser uma opção aos métodos de refluxo tradicionais. As microondas são ondas eletromagnéticas não ionizantes, com energia suficiente para produzir calor em determinados materiais, incluindo a água. Desta forma, a utilização das microondas como fonte de aquecimento para a suspensão de solo em sacos plásticos para a extração de boro disponível passou a ser uma alternativa promissora e interessante.

Com respeito ao método para a determinação de boro, o procedimento mais empregado é o método colorimétrico da Azometina-H (Capelle, 1961 e Wolf, 1971). O aspecto favorável dessa metodologia está no meio reacional aquoso, que é mais simples e mais sensível, quando comparada a outros métodos (Parker e Gardner, 1981 e Andrade et al., 1988). Entretanto, McGeehan et al. (1989) observou uma grande variação nos resultados de boro, determinados por azometina-H, em 37 solos analisados por diferentes laboratórios, participantes de um programa de controle de qualidade. Uma das fontes mais prováveis desta variação seria a cor dos extratos. Uma outra alternativa favorável, agora no

sistema de detecção, é o uso da técnica de ICP-AES, pois não é influenciada pela cor do extrato, apresenta uma faixa extensa de concentração com resposta linear, que facilita as análises de baixas e altas concentrações do mesmo elemento sem diluição (Isaac e Johnson, 1985). A determinação por ICP-AES tem também uma vantagem considerável, pois não sofre interferências de elementos como Ca, Mg, Na, Mn, Si e Fe, que são normalmente encontrados em extratos de solo em concentrações relativamente altas (Jeffrey e McCallum, 1988).

Um dos objetivos desse trabalho foi procurar estabelecer um método de análise de rotina para a extração de boro disponível do solo, usando forno de microondas como fonte de aquecimento em vez do procedimento convencional que emprega refluxo, bem como a utilização da técnica de ICP-AES em comparação ao método colorimétrico, para a determinação de boro no extrato.

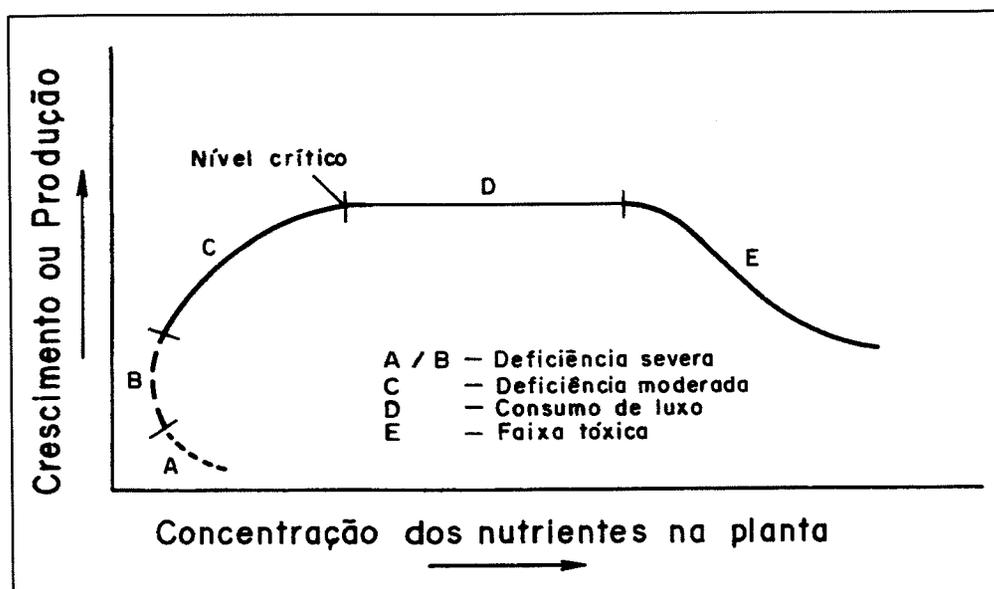
## **II.2. A ANÁLISE DE PLANTAS**

A análise de solo por si só não garante que a planta esteja sendo suprida adequadamente, pois diversos fatores podem influenciar a absorção dos nutrientes. Desta forma, é necessário uma avaliação do estado nutricional das plantas, principalmente quando se trata de plantas perenes. Essa avaliação pode ser feita através de uma análise dos teores totais dos nutrientes dentro da planta. Essa análise pode ser utilizada para estudos relacionados à fisiologia do nutriente ou do elemento na planta ou mesmo para monitoramento ambiental, revelando a existência de elementos tóxicos nas plantas que podem conseqüentemente ser transferidos à cadeia alimentar.

Pelo fato de as folhas serem consideradas o local onde ocorrem as atividades fisiológicas das plantas, qualquer alteração na composição nutricional é refletida nas concentrações dos nutrientes nas folhas. A análise foliar é, portanto, utilizada como um critério para diagnosticar deficiências ou toxidez dos nutrientes, que possam vir a comprometer a produção. Isto porque há uma

relação entre o conteúdo dos elementos nutrientes essenciais às plantas e o desenvolvimento deste vegetal. Tal relação pode ser ilustrada de acordo com a figura II.1. O lado esquerdo (A+B+C) indica que baixas concentrações de um nutriente implicam baixa produção, etapa de deficiência. Conforme se aumenta a concentração do nutriente, o desenvolvimento da planta ou produção também aumenta até alcançar o nível crítico. Acima desse nível, o aumento na concentração do nutriente implica uma produção praticamente constante (D), denominado portanto de consumo de luxo da planta. Entretanto, para concentrações ainda mais elevadas pode-se observar um efeito tóxico (E), comprometendo a produção ou o desenvolvimento da planta (Smith, 1962).

O teor de um determinado nutriente na planta é no entanto uma resultante de diversos fatores que podem afetar a absorção. Dentre os fatores podemos citar: os parâmetros do solo (textura, aeração, umidade, pH, materiais adicionados, etc.), os fatores genéticos (espécies e variedades), a idade fisiológica da planta, a parte da planta amostrada e o clima .



**Figura II.1:** Curva esquemática de desenvolvimento de uma cultura em função da concentração de um nutriente na planta, baseada em Smith (1962).

A amostragem de plantas é, sem dúvida, uma etapa na qual podem ocorrer erros que dificultam a interpretação do resultado final. Obter uma amostra representativa de uma determinada espécie de planta é uma tarefa complexa e exige conhecimentos bem específicos que devem levar em consideração alguns fatores. A composição de nutrientes em tecidos vegetais é influenciada pelos seguintes fatores: a) fatores intrínsecos da planta como a natureza da espécie ou variedade, natureza do porta enxerto, estágio vegetativo ou idade da planta, abundância, distribuição e funcionamento das raízes, volume de produção dos frutos; b) fatores do ambiente, como variações climáticas, suprimento de água, estado sanitário da planta, natureza e manejo do solo, etc.; c) interações entre os elementos minerais (Lopes e Carvalho, 1988). Portanto, a padronização dos métodos de amostragem é importante para minimizar os erros que podem afetar a composição dos nutrientes nas folhas. Na literatura existem diversos procedimentos que podem ser seguidos para os critérios de amostragem recomendados. Os descritos por Chapman (1966) e Jones et al. (1971) têm sido bem aceitos e, no Brasil, destacam-se os relatados por Trani et al. (1983). Caso não seja encontrado nenhum procedimento específico para amostragem de uma determinada planta para fins de fertilidade, deve-se então coletar as folhas superiores, recentemente maduras, com aparência semelhante às demais. Isto porque, tais folhas são a sede do metabolismo e refletem as mudanças do estado nutricional da planta (Trani et al., 1983). Como há uma grande probabilidade de erros na etapa da amostragem, esta deve ser, portanto, executada por um técnico especializado e treinado.

Após a coleta, a amostra é encaminhada ao laboratório. O tempo de envio deve ser o menor possível. Caso haja necessidade, deve-se resfriar o material a 4°C e mantê-lo resfriado durante o transporte ou secar antes de enviá-lo ao laboratório (Jones et al. 1991).

O material é lavado, para remover as contaminações da superfície, pois as folhas podem estar impregnadas de poeira, que afetam as determinações de ferro e alumínio, ou com resíduos de fungicidas, inseticidas ou mesmo com adubos foliares. Esses últimos são os que mais alteram os resultados e devem ser removidos do material fresco. A lavagem com uma solução de detergente 0,1 a 0,3% (v/v) seguida de água deionizada tem se mostrado eficiente, de acordo

com Wallace et al. (1980). Entretanto, para estudos que envolvem folhas de cafeeiro nas quais se aplicou fungicida à base de cobre, Pavan et al. (1984) necessitaram de uma lavagem mais drástica, com uma solução de HCl 3% (v/v) e em seguida de detergente 0,1% e água deionizada, para remover o cobre superficial. Adicionalmente, a eficiência da lavagem dependerá também da estrutura superficial da planta, se rugosa, lisa ou com pelos. (Quevauviller, 1995).

Após a lavagem, o material deve ser seco o mais rápido possível para cessar os processos químicos e biológicos e preservar a amostra de ações microbiológicas durante o processo de estocagem. A temperatura deve ser alta o suficiente para destruir as enzimas responsáveis pela decomposição e remover a umidade abaixo da temperatura de decomposição térmica e de possíveis perdas de elementos voláteis a serem determinados (Quevauviller, 1995). As enzimas se tornam inativas em temperaturas superiores a 60°C. Por isso a temperatura utilizada é em torno de 65°C e o tempo de secagem é finalizado quando se obtém peso constante.

Posteriormente, o material vegetal é moído e bem homogeneizado, para ser representativo porque pequenas quantidades (cerca de um grama), são normalmente empregadas em uma análise química.

A estocagem deve ser feita preferencialmente em frascos de plástico ou vidro bem vedados. A amostra seca pode ser armazenada à temperatura ambiente ou a 4°C por muito tempo, sem apresentar variações químicas (Houba et al., 1995) e segundo Quevauviller (1995), estas condições foram adequadas à análise de elementos em baixa concentração.

No caso específico das plantas, a amostra deve ser solubilizada, isto é, a matéria orgânica destruída e os nutrientes devem estar em solução. Basicamente, há dois processos de dissolução ou de destruição da matéria orgânica para a determinação de nutrientes: a **via seca**, que trata da incineração das amostras e dissolução das cinzas com ácido, a quente; e a **via úmida**, que utiliza um ácido forte ou a combinação de ácidos a quente. Cada processo apresenta aspectos favoráveis e desfavoráveis e há muita controvérsia quanto ao melhor método para solubilização das amostras (Jones e Case, 1990 e Hoenig, 1995).

### **O Procedimento da Via Seca**

No método da via seca o oxigênio atmosférico serve como oxidante para a queima da matéria orgânica, produzindo um resíduo inorgânico. Posteriormente esse resíduo é então dissolvido por ácidos. Há, portanto, uma combinação do método da via seca e da via úmida. Para potencializar o processo de oxidação durante a queima pode-se adicionar um reagente oxidante, como o nitrato de magnésio. Devido aos problemas de contaminação, não é recomendável o uso desses agentes oxidantes para a digestão de amostras de planta (Christian, 1994).

A via seca, preferida por Bataglia et al. (1983), é um método simples e permite que se trabalhe com uma quantidade maior de amostra e um melhor controle das contaminações provenientes de ácidos. No entanto, ela apresenta limitações, pois muitos elementos podem ser volatilizados, como o enxofre, o arsênio, o selênio, o mercúrio (Jones et al., 1991) e o chumbo, em temperatura superior a 500°C (Christian, 1994). Outros elementos como o zinco, o ferro, o alumínio e o manganês podem ser adsorvidos pela sílica ou mesmo reagir com a superfície do cadinho. Os mecanismos de perdas não são somente determinados pela temperatura máxima da calcinação, mas são também afetados pela velocidade de aquecimento para alcançar a temperatura mais alta. Se o aumento da temperatura for lento, mesmo alcançando 520°C, não se observam perdas de elementos como o chumbo, o zinco e o cádmio (Hoenig, 1995). Há também a possibilidade de contaminação proveniente do ambiente, por ser feito em sistema aberto. Outra desvantagem é o tempo de processamento das amostras, que é considerado lento (Bataglia, 1991), principalmente quando se utiliza a mesma mufla, pois deve-se deixá-la esfriar antes de colocar a próxima bateria de amostras.

Algumas considerações a respeito desse método devem ser feitas. O tipo de recipiente usado na etapa de calcinação podem ser cadinhos de porcelana ou béqueres confeccionados em Pyrex. Entretanto os cadinhos podem liberar alumínio e os béqueres, sódio e boro. A disposição dos recipientes dentro da mufla também é um fator importante. O frasco deve ser apoiado apenas no piso, não devendo ficar em contato com as paredes e ficar o mais distante possível da

porta. A temperatura não deve exceder 500°C, para evitar perdas por volatilização, e temperaturas mais baixas são igualmente inadequadas, pois a destruição da matéria orgânica será incompleta e a recuperação dos elementos ligados à matriz também. O tempo de calcinação apropriado para a maioria dos materiais vegetais, está entre 3 e 8 horas. Uma outra observação feita é que o teor de alumínio pode ser subestimado em consequência da formação do óxido de alumínio, insolúvel. O procedimento usado para a dissolução das cinzas também pode afetar a recuperação dos elementos. Normalmente, são usados os ácidos nítrico, clorídrico ou a combinação de ambos em concentrações elevadas sob temperatura ambiente ou sob aquecimento. Sob temperatura ambiente, elementos como alumínio, cromo e ferro não conseguem ser solubilizados (Dalquist e Knoll, 1978). Entretanto, o uso de ácido clorídrico com aquecimento tem sido utilizado com bons resultados, inclusive com recuperação razoável dos elementos alumínio e ferro, e tem sido um dos métodos mais usados em rotina (Clément, 1995, Bataglia et al., 1983 e Watson, 1994). Para a certificação de materiais em geral não se adota a via seca devido aos possíveis erros sistemáticos (Quevauviller, 1995). No entanto, a adição de ácido fluorídrico após a solubilização com ácido clorídrico tem sido aceita por determinados Comitês de Análise como o "Comitee Inter-Instituts - CII" (1993), para a volatilização da sílica como fluoreto de silício ( $\text{SiF}_4$ ). Nesse caso, a calcinação deverá ser feita em cadinho de platina, ou se for de porcelana, deve-se transferir para um béquer de Teflon antes de adicionar o ácido fluorídrico (Clément, 1995).

Deve-se evitar o uso do procedimento por via seca para materiais que contenham quantidades altas de sílica, a menos que ela seja removida com ácido fluorídrico. Esta preocupação é pertinente porque alguns elementos, principalmente o zinco, ficam ocluídos na sílica (Jones e Case, 1990).

### ***O Procedimento da Via Úmida***

O método da via úmida é o mais bem aceito para dissolução de materiais vegetais consistindo na destruição da matéria orgânica através da digestão ácida, em alta temperatura. Os ácidos oxidam a matéria orgânica a dióxido de

carbono, água e outros compostos voláteis, que são eliminados, deixando apenas os sais ou ácidos dos constituintes inorgânicos (Christian, 1994). Normalmente, os ácidos mais usados são os chamados ácidos minerais como o ácido nítrico, o ácido sulfúrico, o ácido clorídrico, o ácido fluorídrico e o ácido perclórico, em diferentes combinações entre si. Algumas vezes têm-se ainda a inclusão da água oxigenada.

O **ácido nítrico** é o ácido mais amplamente utilizado na decomposição da matéria orgânica devido às seguintes qualidades: forte agente oxidante; os sais de nitrato são bastante solúveis; não forma complexos; e é possível obtê-lo com grau de pureza elevado. Por apresentar baixo ponto de ebulição, 120°C, quando processado em sistemas abertos, há necessidade de longo período para se completar a decomposição. Dessa forma, a adição de outros agentes oxidantes fortes como a água oxigenada, o ácido perclórico, é necessária para acelerar o processo oxidativo. Quando empregado em sistemas sob pressão, o ponto de ebulição do ácido nítrico pode alcançar até 170°C e, conseqüentemente, aumentar o potencial de oxidação e a velocidade de reação. Basicamente a reação envolvida na digestão da matéria orgânica [(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>] pelo ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) é a seguinte:



O **ácido sulfúrico** apresenta ponto de ebulição em torno de 330°C, sendo o mais alto entre os ácidos minerais. Este ácido é um ácido forte, atua como um agente oxidante forte quando a quente e possui um grande poder desidratante. Os sais de sulfato são geralmente solúveis, exceto o sulfato de cálcio, de estrôncio, de bário e de chumbo. Portanto, deve ser evitado para material foliar com alto teor de cálcio, pois causa a precipitação do sulfato de cálcio, e por coprecipitação, de outros elementos (Jones et al., 1991). Esse ácido pode interferir nas determinações por espectrofotometria de absorção atômica com

vaporização eletrotérmica (do inglês electrothermal atomization - absorption atomic spectrophotometric - ET-AAS) ou por ICP-AES (Hoenig, 1995).

**O ácido perclórico** a quente é um oxidante altamente reativo e reage de forma explosiva na presença de compostos facilmente oxidáveis, principalmente se a mistura chegar à secura. Para contornar esse fato inicialmente se faz uma digestão com ácido nítrico oxidando os compostos mais facilmente oxidáveis e, logo após, se adiciona o ácido perclórico. O potencial de oxidação deste ácido é diretamente proporcional à concentração da matéria orgânica presente e à temperatura empregada. As baixas solubilidades dos percloratos dos elementos alcalinos também limitam a utilização do ácido perclórico na digestão. Alguns países como os Estados Unidos da América, permitem o uso do ácido perclórico somente em sistemas de exaustão especiais, com superfícies que não contenham matéria orgânica e com proteção. Os vapores ácidos são também continuamente lavados em água antes de serem eliminados para a atmosfera (Howitz, 1980). Tais sistemas de exaustão são eficientes, apesar de apresentarem alto custo e vida útil relativamente curta.

**O ácido fluorídrico** é um ácido fraco, não oxidante. O ânion fluoreto é um forte complexante formando fluoretos estáveis e complexos fluoretados, com muitos elementos, principalmente os refratários, que são difíceis de dissolver por formarem óxidos insolúveis e estáveis. O principal uso do ácido fluorídrico é na dissolução de materiais que contenham sílica em conjunto com outro oxidante. O silício é transformado em  $\text{SiF}_4$  e volatilizado. Algumas limitações ao seu uso devem-se às vidrarias, que são atacadas devido à sílica e à presença de traços do ânion fluoreto, que devem ser eliminados para prevenir interferências na análise subsequente. Além disso, o ácido fluorídrico em contato com os tecidos da pele produzem queimaduras sérias, de difícil cicatrização, com conseqüências graves. Dessa forma sua manipulação exige cuidados redobrados como o uso de máscara facial e roupas que protejam todo o corpo, além de avental feito com plástico, de luvas e de sistemas de exaustão muito eficientes.

**O ácido clorídrico** apesar de ser um ácido forte, não apresenta propriedades oxidantes. A maioria dos cloretos metálicos são solúveis, exceto o  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{AgCl}$  e  $\text{TlCl}$  e o  $\text{PbCl}_2$ . O  $\text{PbCl}_2$  é pouco solúvel em água fria, porém é solúvel a quente. O ácido clorídrico é preferencialmente usado para a dissolução

de óxidos e de hidróxidos metálicos, fosfatos, boratos, carbonatos, sulfetos e alguns silicatos, mas a sílica não permanece em solução. Ele não é utilizado sozinho para a digestão de plantas. Muitas vezes, se opta pela mistura de ácidos ou de um ácido com outro reagente para potencializar o processo de digestão ou dissolução.

O emprego da mistura **nítrico-perclórico** na proporção 4+1 v/v  $\text{HNO}_3$  :  $\text{HClO}_4$  é o procedimento por via úmida mais utilizado e recomendado na digestão de plantas, sendo incluído nos protocolos oficiais adotados por países como a Inglaterra (Ministry of Agriculture, Fisheries And Food, 1986). Ambos os ácidos são oxidantes e o ácido nítrico modera a forte ação oxidante do ácido perclórico, minimizando os problemas de explosões. É o procedimento mais adequado para a destruição de proteínas e carboidratos, mas não é recomendado para amostras com altos teores de gordura. Os materiais orgânicos com nitrogênio heterocíclico não são completamente destruídos por essa mistura. Isto o torna particularmente útil para a destruição de amostras de tecido vegetal. O cuidado com esse processo está em não deixar o material reativo chegar à secura, durante o processo de digestão (Watson, 1994).

Outra mistura de ácidos muitas vezes empregada é a chamada **água régia**, composta por uma mistura de ácido clorídrico e ácido nítrico na proporção de 3+1 v/v. O ácido nítrico oxida o ácido clorídrico, resultando em um produto fortemente oxidante, o cloreto de nitrosila ( $\text{NOCl}$ ). Esse produto, em conjunto com o íon cloreto, formam um sistema capaz de dissolver até os metais nobres. O emprego dessa mistura não se justifica para a digestão de plantas. Entretanto, para resíduos urbanos e industriais, que são normalmente compostos variados com alto teor de matéria orgânica, óxidos e outros metais, é um método de digestão bastante eficiente.

A combinação de um ácido oxidante e outro agente oxidante tem sido bastante empregada, pois o segundo potencializa o poder de oxidação do ácido. Em geral se emprega o **peróxido de hidrogênio** como oxidante devido ao seu alto poder de oxidação e ao seu alto grau de pureza, resultando em baixos valores das amostras em branco. Além disso, o produto final da sua decomposição é a água. A mistura entre o ácido perclórico e a água oxigenada é

também empregada para amostras de plantas (Clément, 1995), nas quais a água oxigenada é utilizada na pré-digestão. Outra mistura mais comum para digestão de plantas é a combinação de ácido nítrico com água oxigenada. A combinação entre ácido sulfúrico com água oxigenada tem sido muito empregada na digestão de plásticos e outros produtos processados com fibras sintéticas e naturais, comestíveis e seus aditivos (Watson, 1994).

A técnica da via úmida pode ser desenvolvida em sistemas abertos, sob pressão atmosférica ou em sistemas fechados sob pressão, que podem alcançar até 8,3 MPa. Os processos abertos são os mais comumente empregados e do seu uso podem ser observados diversos problemas tais como: perdas de alguns elementos por volatilização (As, Se, Hg), a necessidade de uso de grande volume de ácido, além das contaminações provocadas por partículas do ambiente e pelas impurezas presentes nos ácidos, já que são concentradas durante o processo de evaporação. As contaminações resultam em altas leituras do branco, afetando conseqüentemente o limite de detecção. Alguns elementos presentes nas vidrarias, como boro e sódio, podem ser lixiviados e podem também, contaminar a mistura, principalmente se esses elementos estiverem contidos em baixa concentração na amostra. O emprego de frascos confeccionados em Teflon PTFE (politetrafluoroetileno) pode resolver esse problema, mas também pode comprometer a velocidade de digestão, pois o Teflon PTFE isola a mistura ácida do calor.

De uma maneira geral, esses procedimentos envolvem uma manipulação perigosa de reagentes, devendo ser constantemente monitorados para que não se chegue à *secura*, caso contrário, os metais dissolvidos se oxidarão e se tornarão insolúveis.

Os processos de digestão sob pressão em frascos selados é uma técnica amplamente usada e foi introduzida por Carius em 1860 (Kingston & Jassie, 1988). O frasco que é conhecido como tubo de Carius é confeccionado em vidro com paredes duras, onde a amostra é colocada com ácido e selada. Quando aquecida pode alcançar pressões de aproximadamente 140 kPa. Para sua abertura o tubo é resfriado e quebrado em capela, o que o torna um tanto inconveniente para rotina. Além disso, por ser confeccionado em vidro, ficam mais susceptível a explosões. Com o surgimento do polímero PTFE (Teflon),

desenvolveram-se as bombas de Teflon, que consistem em um béquer interno desse material no qual é colocada a mistura ácida, e uma jaqueta externa em aço inox que pode suportar pressões da ordem de 8,3 MPa e temperaturas de 300°C.

As vantagens mais interessantes dos processos selados são: (i) os elementos voláteis ficam retidos na solução, (ii) não há evaporação de ácidos, o que permite a utilização de pequenos volumes, (iii) não há vazamentos de fumos ácidos durante o processo, (iv) não há contaminação externa, (v) requer monitoramento menos rigoroso e (vi) por estar sob pressão, pode-se alcançar temperaturas tão altas como 300°C.

O procedimento que envolve pressão em sistemas fechados também apresenta desvantagens. Dentre essas, tem-se que a quantidade de amostra não pode ser superior a 0,5 g, dificultando a análise de elementos presentes em baixas concentrações. Tal digestão é usualmente lenta, ou seja, não é mais rápida que o procedimento convencional. A limpeza do material do recipiente empregado (no caso o Teflon) requer tempo, pois o material é poroso e alguns elementos podem se difundir pelo polímero caso fiquem em contato com as paredes do frasco por um longo período sob altas temperatura e pressão. Normalmente, as bombas de Teflon são revestidas com aço, o que dificulta a visualização do andamento da digestão. Para monitorar é necessário resfriar o sistema para que se possa abrir o frasco.

Com o desenvolvimento da tecnologia de microondas tem havido um crescente interesse na utilização desse princípio como fonte de aquecimento alternativa na abertura de amostras. Os resultados têm-se mostrado equivalentes ou melhores que os métodos tradicionais (Jassie e Kingston, 1988). O aquecimento por microondas é obtido pela aplicação da energia eletromagnética diretamente sobre a amostra, provocando um aquecimento mais efetivo que aqueles provenientes de uma fonte externa de calor. O aquecimento por microondas é bem diferente dos métodos tradicionais condutivos, e apresenta propriedades únicas das quais a mais importante é a velocidade de digestão. Isso permite uma dissolução mais rápida, com um menor consumo de reagentes e de tempo, e com resultados mais reprodutíveis. Os riscos de contaminação e perdas de elementos voláteis são também minimizados (Kingston e Jassie, 1986;

Hewith e Reynolds, 1990 e Nieuwenhuize e Poley-Vos, 1989). A teoria sobre as microondas será abordada no item II.4.

O uso das microondas como fonte de aquecimento para procedimentos de digestão por via úmida foi primeiramente demonstrado por Abu-Samra et al. (1975). Desde então, diversos trabalhos foram descritos para aplicações específicas em digestões ácidas com frascos abertos. Entretanto, esses sistemas causam corrosão no equipamento e riscos de contaminação por partículas do ambiente, bem como perdas dos elementos voláteis. Assim, foram introduzidos os sistemas fechados construídos em material transparente às microondas e inertes aos ácidos, como por exemplo o Teflon. Dessa forma, o número de aplicações empregando microondas para digestão de amostra, principalmente materiais biológicos, tem crescido exponencialmente e cada vez mais os químicos analíticos estão se familiarizando com esta técnica (Kuss, 1992).

Com relação à digestão de amostras de plantas, há diversas publicações na literatura, empregando tanto os fornos de microondas comerciais, de alto custo, como os domésticos de custo bem inferior, porém com problemas de segurança.

Basicamente são utilizados somente o ácido nítrico (Halls et al., 1987, Miller-Ihli, 1988 e CEM, 1986) ou outras combinações como ácido nítrico e clorídrico (Rechcigl e Payne, 1990 e Nieuwenhuize e Poley-Voz, 1989), ácido nítrico e água oxigenada (Matejovic e Durokova, 1994, Sah e Miller, 1992 e Bañuelos e Akohoue, 1994), ácidos nítrico - fluorídrico - água oxigenada ( $\text{HNO}_3$  -  $\text{HF}$  -  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (Fridlung et al., 1994).

Sah e Miller (1992) apresentaram um método para digestão de tecidos biológicos, inclusive tecidos foliares, utilizando  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  em sistemas fechados com aquecimento por microondas. A vantagem desse procedimento está na pequena quantidade de ácido empregada em relação a massa, 0,5 g de amostra para 1 mL de ácido nítrico. A relação normalmente usada é de 0,5 g para 10 mL, o que implica na necessidade de diluição a pelo menos 50 mL, para não ficar uma solução muito ácida e causar danos aos equipamentos. Por outro lado, com essa diluição há prejuízo na detecção dos elementos presentes em menor concentração. A água oxigenada, como descrito anteriormente, não acarreta prejuízo, tendo como produto da decomposição a água.

Cada um dos processos mencionados apresenta suas vantagens e desvantagens, dificultando a decisão de qual opção é a mais adequada para rotina. A decisão dependerá especialmente do elemento ou elementos a serem determinados, da natureza da amostra, da dificuldade de digestão, da sensibilidade analítica requerida e da capacidade de processamento de amostra do laboratório (Jones e Case, 1990 e Matejovic e Durockova, 1994)

### **II.3. A ANÁLISE DE RESÍDUOS APLICÁVEIS À AGRICULTURA**

O interesse na utilização do solo como alternativa para a deposição de resíduos domiciliares ou industriais tem crescido muito nos últimos anos. Desses resíduos se destacam principalmente o composto de lixo urbano, o lodo gerado pelo sistema de tratamento de esgoto doméstico e industrial, os estercos de animais, os adubos verdes, bem como produtos de descarte industrial, das mais diferentes origens. Por serem ricos em matéria orgânica esses materiais funcionam como uma espécie de fertilizantes no solo.

A aplicação destes materiais ao solo proporcionam melhores condições físicas, químicas e biológicas e se associados aos adubos minerais proporcionam também um melhor aproveitamento dos minerais, refletindo em uma produção maior para as culturas exigentes em nutrientes (Berton, 1996).

O composto de lixo urbano, que engloba o lixo domiciliar e o comercial, é o produto da decomposição aeróbica da fração putrescível do lixo. A composição do lixo é muito variada, com partículas de diferentes origens como vidro, borracha, plásticos, dentre outras. Sua composição é definida também pelas características sociais, econômicas e culturais da população que o produz. A quantidade de matéria orgânica pode representar de 20 a 51% do material. Entretanto, quando o lixo é indevidamente coletado e separado pode apresentar teores elevados de micronutrientes e outros metais, que podem causar toxidez às

plantas. O grau de maturação do material é também um fator muito importante e pode influenciar o procedimento de lixiviação.

O lodo é o material resultante do sistema de tratamento de esgoto, e dentre os resíduos aplicáveis à agricultura é o que pode trazer mais complicações. O lodo pode conter grandes quantidades de patógenos causadores de doenças, que conseguem sobreviver meses e até anos no solo. A composição do lodo é bastante variável e flutua de acordo com o local de coleta, o tipo de tratamento, a época do ano e outros fatores específicos. A compostagem é também essencial no lodo de esgoto para eliminar os patógenos que podem colocar em risco a saúde humana e dos animais.

A aplicação de esterco de bovinos, aves e suínos é uma das práticas mais antigas do uso de resíduos como adubo orgânico. A variação na composição dos esterco de origem animal é relativamente grande e depende do tipo e da alimentação do animal, da manipulação e da estocagem do resíduo. Da mesma forma que o lixo e o lodo de esgoto, esse material necessita sofrer compostagem, pois pode também conter patógenos causadores de doenças. Normalmente esses resíduos contêm praticamente todos os nutrientes inorgânicos necessários às plantas em quantidades variáveis, sendo 90% em matéria orgânica. De um modo geral, dificilmente esses resíduos apresentam teores elevados de metais tóxicos, entretanto os minerais que constituem a ração do animal podem ser encontrados nesses resíduos em quantidades preocupantes.

A possível existência de elementos tóxicos, que uma vez adicionados ao solo podem entrar na cadeia alimentar, exigem portanto um controle para aplicação no solo. Atualmente alguns países apresentam uma legislação para controlar aplicação desses materiais ao solo. A legislação engloba teores limites para compostos orgânicos persistentes como as dioxinas, patógenos e também para elementos metálicos potencialmente tóxicos como cádmio, cromo, cobre, mercúrio, níquel, chumbo e zinco. Apesar de o cobre e o zinco serem micronutrientes, altos teores os tornam potencialmente tóxicos para as plantas. As concentrações limites para os elementos no composto de lixo e lodo de esgoto em alguns países europeus e nos Estados Unidos da América estão descritos nos quadros II.1 e II.2, respectivamente.

Infelizmente, no Brasil não há legislação para controle da aplicação de resíduos na agricultura. Entretanto, grande empenho vem sendo feito por parte dos pesquisadores e de órgãos governamentais do Estado de São Paulo para que se estabeleça as condições necessárias para a deposição dos resíduos em solos agrícolas.

A concentração do elemento definida pela análise química é que estabelecerá a viabilidade do uso de um determinado resíduo no solo.

Diferentes procedimentos podem ser encontrados na literatura para a digestão de resíduos utilizando as mais variadas combinações de ácidos e reagentes. A padronização neste campo é fortemente necessária para que se possam comparar os dados obtidos pelas diferentes pesquisas. Esse mesmo problema tem levado, recentemente, alguns países europeus a buscarem uma harmonização dos procedimentos analíticos, segundo Quevauviller et al. (1996).

A obtenção dos teores totais dos elementos metálicos em resíduos necessita de uma digestão com ácido fluorídrico em combinação com um ou mais ácidos fortes, devido à sílica presente nesses materiais. No entanto, como já visto, a utilização do ácido fluorídrico é problemática para laboratórios de rotina e não é recomendável por ser corrosivo, de difícil manuseio e por requerer um maior tempo para a digestão. Dessa forma, é comum a preferência por ácidos fortes como, o ácido nítrico; a mistura dos ácidos nítrico e perclórico; e a água-régia (Thompson e Wagstaff, 1980, Griepink et al., 1984 e McGrath e Cunliffe, 1985). Embora as digestões com esses ácidos não resultem nos teores totais, os valores obtidos são bem próximos aos totais e são suficientes para diagnosticar os níveis de contaminação dos metais nos solos ou resíduos (McGrath e Cunliffe, 1985). O método que envolve a digestão com água-régia tem sido amplamente adotado nos países europeus, bem como pela "Community of Bureau of Reference -BCR", que fornece os teores obtidos pela digestão com a água-régia, além dos teores totais certificados extraídos com ácido fluorídrico e é recomendado como método oficial pelo "Standaring Comitee of Analysts" - 1986 (Griepink et al., 1984 e Ure, 1996).

Com o surgimento da técnica de microondas em sistemas fechados sob pressão, que diminui o tempo de digestão, diversos métodos têm sido adaptados

a partir dos métodos convencionais, para a digestão dos mais variados tipos de resíduos.

**Quadro II.1:** Concentrações máximas limites para composto de lixo em alguns países europeus (Egreja Filho, 1993 e Grossi, 1993).

País	mg kg <sup>-1</sup>					
	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
França	8			200	800	
Holanda	3		400	60	500	1300
Itália	10	500	600	200	500	2500
Alemanha	1,5	100	100	50	150	400
Suíça	3		150	50	150	500
Áustria	6	300	100	200	900	1500

**Quadro II.2:** Concentrações máximas limites para lodo de esgoto permitido pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América e por alguns países europeus. Os dados não listados significa que não foram encontrados. (Egreja Filho, 1993, Grossi, 1993 e Federal Register, 1993)

País	mg kg <sup>-1</sup>					
	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
EUA (USEPA)	85	3000	4300	420	840	7500
França	15		1500	100	300	3000
Holanda	10		600	100	500	2000
Alemanha	10	900	800	200	900	2500
Bélgica	10		500	100	300	2000
Dinamarca	8		600	40	475	3000

Nieuwenhuize et al. (1991) apresentou um método alternativo para uso em forno de microondas para a extração de elementos do solo, sedimentos e resíduos usando água-régia como extrator. Os resultados obtidos foram compatíveis com os fornecidos pelo método convencional usado por McGrath e Cunliffe (1985).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (USEPA) também desenvolveu um método oficial (SW 846 3051 ou simplesmente EPA 3051) para digestão de resíduos, solos e sedimentos com ácido nítrico em microondas (CEM, 1991).

Com o objetivo de avaliar qual dos métodos melhor se adapta às condições de rotina, fez-se também neste trabalho uma comparação entre o método convencional usando a mistura de ácidos nítrico e perclórico com aquecimento térmico condutivo e os procedimentos que empregam forno de microondas: o método proposto pela USEPA com ácido nítrico (SW 846 3051) e o método proposto por Nieuwenhuize et al. (1991) com água-régia. Em todos os digeridos as determinações analíticas foram feitas pela técnica de ICP-AES.

#### **II.4. A TEORIA E OS EQUIPAMENTOS DE MICROONDAS**

O desenvolvimento do radar durante a Segunda Grande Guerra Mundial estimulou o rápido crescimento da tecnologia de microondas. A primeira aplicação foi o aquecimento de alimentos e permitiu assim o desenvolvimento dos microondas domésticos. Industrialmente as aplicações são variadas e incluem o tratamento do carvão para a remoção do enxofre e outros poluentes, a vulcanização da borracha e a secagem de massas alimentícias. A aplicação das microondas para digestão de amostras biológicas foi inicialmente descrita por pesquisadores da Universidade de Missouri - EUA (Abu-Samra et al., 1975) como um procedimento rápido e seguro. E, a partir de 1985, surgiram os equipamentos comerciais, projetados especialmente para a decomposição de amostras com ácidos fortes (White, 1988)

### **Teoria sobre as microondas**

As microondas são uma forma de energia eletromagnética não ionizante que causam movimento molecular através da migração de íons e rotação de dipolos, sem provocar mudanças na estrutura molecular. As microondas viajam na velocidade da luz, com frequências na faixa de 300 a 300.000 MHz. No espectro eletromagnético as microondas se encontram acima da região do infravermelho e abaixo das ondas de rádio. Na pesquisa ou em indústrias são permitidas quatro frequências, em MHz:  $915 \pm 25$ ,  $2450 \pm 13$ ,  $5800 \pm 75$  e  $22125 \pm 125$ , sendo a mais comum a de 2450 MHz. Esses valores foram estabelecidos por órgãos competentes como "Federal Communications Commission" e de acordo com "International Radio Regulations", realizado em Genebra em 1959. A energia das microondas com 2450 MHz, de comprimento de onda 12,2 cm, varia entre 600 e 700 W e a aplicação desta energia produz cerca de 36 kJ por minuto.

Tipicamente, a energia de microondas é transmitida à amostra através de dois mecanismos: a condutância iônica e a rotação de dipolos, ou ambas simultaneamente.

A condutância iônica é a migração condutiva de íons dissolvidos em solução quando em presença de um campo eletromagnético. O campo eletromagnético de microondas muda de sinal vários milhões de vezes a cada segundo, forçando os íons a mudarem o sentido de migração outras tantas vezes. A migração de íons causa colisões entre moléculas e aumento na energia cinética, elevando conseqüentemente a temperatura (Gilman, 1988). Os parâmetros que afetam a condutância iônica são: a concentração do íon, a mobilidade do íon no meio e a temperatura da solução. Uma solução iônica contém pelo menos duas espécies iônicas, cátion e ânion, e cada espécie conduz corrente de acordo com sua mobilidade e concentração.

A rotação de dipolos se refere ao alinhamento das moléculas que apresentam momento dipolar permanente ou induzido devido a um campo elétrico. Quando o campo eletromagnético aumenta, moléculas polarizadas tendem a se alinhar com os dipolos. Quando o campo é removido, as moléculas se desordenam, produzindo energia térmica. O tempo de relaxação é aquele

necessário para que 63% das moléculas em solução retornem à desordem. Quando a molécula sofre esse processo de rotação de dipolos, ocorrem também colisões, e portanto, aumento na temperatura (Gilman, 1988). Com microondas de 2450 MHz, o alinhamento seguido da desordem ocorre  $4,9 \times 10^9$  vezes por segundo, resultando em um aquecimento rápido.

A porcentagem de contribuição entre os mecanismos de condutância iônica e rotação de dipolos para o aquecimento depende da mobilidade e concentração de íons na amostra e das características dielétricas, que por sua vez são dependentes da viscosidade e da temperatura da solução.

### **O equipamento de microondas e os acessórios**

Um equipamento típico comercial de microondas consiste nos seguintes componentes: um gerador de microondas (“magnetron”), um guia de ondas, uma cavidade de microondas, um circulador e um prato giratório. A energia de microondas é produzida pelo “magnetron”, propagada através do guia de ondas e é introduzida diretamente na cavidade de microondas onde o circulador distribui a energia acumulada em diferentes direções. A figura II.2 descreve basicamente os componentes de um microondas comercial.

A energia de microondas produzida pelo “magnetron” pode ser calculada indiretamente pela medida do aumento da temperatura de uma grande quantidade de água que consiga absorver praticamente toda a energia liberada para a cavidade do microondas. Para isso é utilizada uma equação derivada da teoria sobre a capacidade de aquecimento de uma dada massa a uma pressão constante (Neas e Collins, 1988), ou seja:

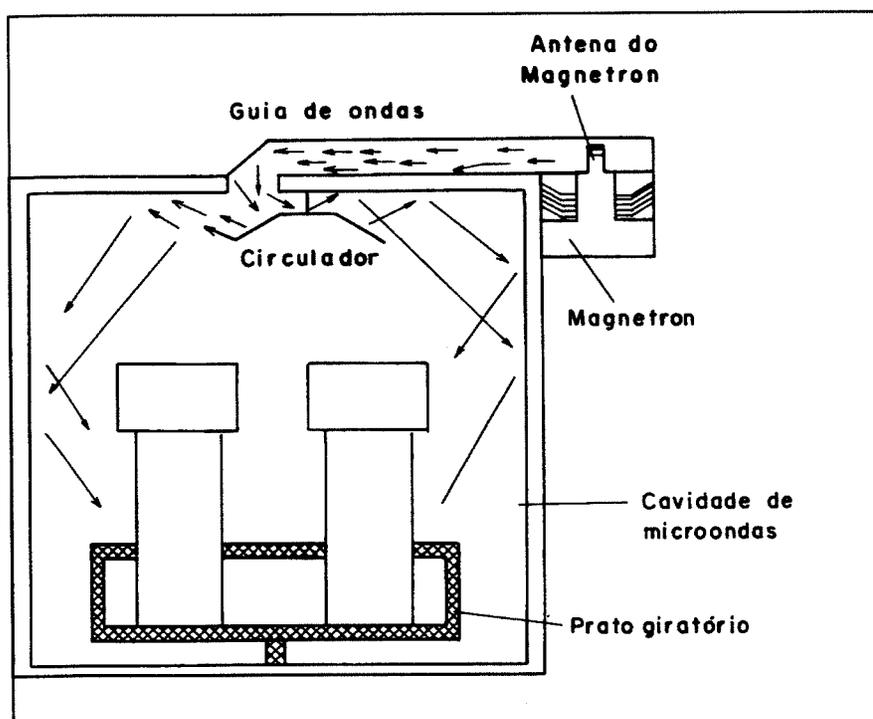
$$P_{abs} = \frac{K C_p m \Delta T}{t} \quad (II.1)$$

onde:  $P_{abs}$  é a potência aparente absorvida por uma amostra, em watts ( $1W = 1 Js^{-1}$ ),  $K$  é o fator de conversão de calorias termoquímicas para watts ( $4,184 J cal^{-1}$ ),  $C_p$  é a capacidade de aquecimento, capacidade térmica ou calor específico ( $cal g^{-1} °C^{-1}$ ),  $m$  é a massa em gramas da amostra,  $\Delta T$  é a diferença

entre a temperatura final e inicial ( $^{\circ}\text{C}$ ) e finalmente  $t$  é o tempo em segundos (Kingston e Jassie, 1988).

Esta teoria pode ser usada para avaliar a potência de um equipamento, bem como avaliar as oscilações de potência que podem ocorrer com o uso freqüente do equipamento. A potência liberada não depende somente do "magnetron", mas também das dimensões da cavidade de microondas e do guia de ondas.

Os materiais usados em microondas podem ser classificados de acordo com o comportamento de suas interações com as microondas: material reflexivo, transparente e absoritivo. O material reflexivo reflete as ondas e não se aquece, por exemplo, os metais. Por isso a construção da cavidade e de outras partes de um equipamento de microondas é feita em metal, revestidas com um polímero para evitar centelhas. Os materiais transparentes deixam que as ondas os atravessem sem que se aqueçam. Devido a essa característica, materiais trans-



**Figura II.2:** Descrição dos componentes básicos de um forno de microondas comercial para digestão de amostra.

parentes como vidros, Teflon e alguns plásticos são empregados na fabricação de recipientes para conter a amostra. Finalmente, os materiais absorptivos são aqueles que irão receber e absorver as ondas, como a água, ácidos e soluções salinas, dentre outros.

Os melhores materiais utilizados para recipientes são o Teflon PFA (perfluoro alquóxi etileno) e o poliestireno. O primeiro é o mais empregado nos equipamentos comerciais para fins analíticos; é um polímero de carbono com cadeia longa e grupos de perfluoro alquóxi pendentes (marca registrada da Du Pont Company). Esse material é quimicamente inerte aos ácidos minerais e suporta temperaturas de até 260°C e pressão de 1.380 kPa. Porém, o ácido sulfúrico deve ser evitado porque possui ponto de ebulição de 338°C e o ponto de fusão do Teflon está entre 302 a 306°C (Kingston e Jassie, 1986). Pequenas quantidades de água e ácidos minerais como os ácidos clorídrico, nítrico e fluorídrico podem difundir-se pelas paredes e escapar durante a decomposição, mas os íons metálicos e os ânions permanecem em solução. As exceções são o mercúrio elementar, o tetróxido de ósmio e os haletos de hidrogênio. Comercialmente esses recipientes em Teflon PFA são disponíveis com válvula de segurança para prevenir um excesso de pressão no sistema e são acoplados a um controlador de pressão que, de acordo com a programação, cessa a incidência de microondas quando se ultrapassa a pressão preestabelecida. Em geral, essas válvulas suportam pressões até cerca de 1500 kPa (220 psi).

---

### III. A TÉCNICA DE ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA

---

#### ***Nomenclatura utilizada***

Como a literatura consultada foi praticamente toda na língua inglesa, diversos termos ficam difíceis de serem traduzidos. Mesmo na língua inglesa há uma vasta variedade de termos que designam os parâmetros e equipamentos do plasma. Inicialmente a primeira dificuldade fica com a tradução do nome da técnica, em inglês: "Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES)". Normalmente, pode-se encontrar as seguintes formas em português: espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado ou espectrometria de emissão atômica por plasma de argônio com acoplamento indutivo.

Para facilitar tanto a escrita quanto a leitura, optou-se por designar a técnica simplesmente pela sigla em inglês, **ICP-AES**.

Diversos termos não foram traduzidos, como o caso dos nebulizadores: "V-groove" e do "glass-frit", dada a dificuldade de tradução e por serem assim conhecidos na linguagem usual.

### III.1. CONCEITOS BÁSICOS E TEORIA

Um dos meios clássicos de detecção ou de determinação de elementos tem sido a observação de emissões radioativas de átomos ou íons livres em uma chama. As chamas obtidas por combustão constituem-se em um meio muito simples de conversão de substâncias inorgânicas em solução em átomos livres. Para isso basta introduzir um aerossol da solução na chama, que frações dos íons metálicos presentes nas gotículas do aerossol convertem-se em átomos livres, que por sua vez podem ser detectados e determinados quantitativamente por técnicas de absorção, emissão ou fluorescência atômicas (Skoog e Leary, 1992). Esse tipo de chama cria uma região onde ocorrem reações químicas violentas e mesmo sendo prático, não é o meio mais adequado à conversão da amostra em átomos. Isso levou os pesquisadores a buscarem chamas geradas eletricamente, que apresentam temperaturas mais altas e ambientes menos reativos quimicamente. Um dos grandes avanços dessa técnica, foi o desenvolvimento das fontes de excitação usando **plasmas**. O plasma é um gás parcialmente ionizado a alta temperatura, com números aproximadamente iguais de elétrons e cátions, tornando-o eletricamente neutro.

Assim um plasma é qualquer sistema em alta temperatura (chama, tocha de alta frequência, ou forno aquecido eletricamente) caracterizado pelo seu grau de ionização. As chamas produzidas por combustão situam-se no limite inferior do intervalo de temperatura e, portanto, constituem plasmas com baixo grau de ionização (Boumans, 1987).

Inicialmente, o termo plasma, do grego que significa moldar, dar forma, foi apresentado por Langmuir em 1928, devido às suas observações feitas do modo como a coluna positiva de uma descarga tendia a se moldar dentro de um tubo. O plasma é considerado por muitos como o quarto estado da matéria (Moore, 1989).

Nos sistemas de excitação por plasmas, a amostra é introduzida numa zona de alta temperatura de um gás ionizado e para o qual a energia necessária é fornecida através de recursos elétricos. A atomização dentro de um plasma pode atingir níveis de até 100% para os metais.

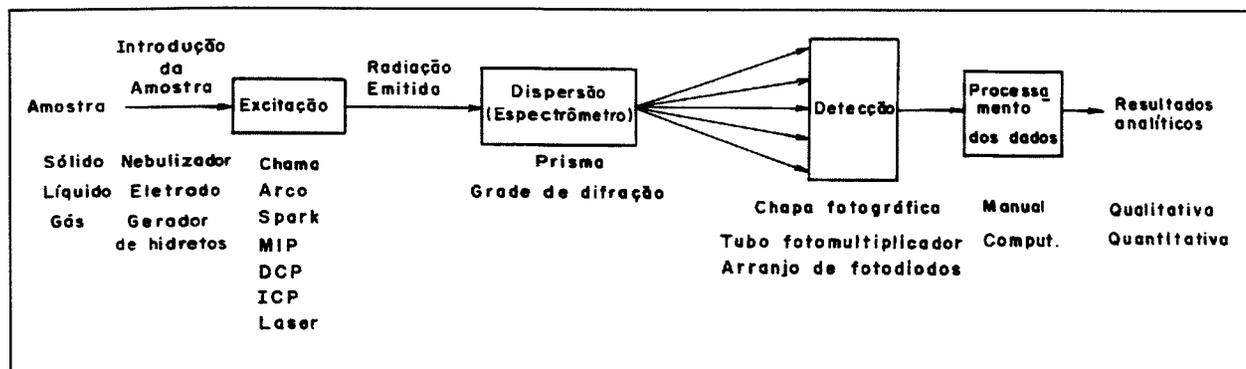
Três fontes de potência têm sido empregadas para a formação do plasma: corrente contínua, rádio-freqüência e microondas. A mais comum é a rádio-freqüência. O princípio básico de cada fonte de excitação por plasma será descrito a seguir:

- \* Plasma de argônio acoplado indutivamente: ( ICP, "*inductively coupled plasma*"). O ICP é , sem dúvida, a fonte de excitação mais efetiva e desde o seu surgimento, em meados de 1960, tem crescido muito em popularidade, apesar do seu custo ser relativamente alto. Atualmente, existem aplicações para o ICP em praticamente todas as áreas da química analítica. O sucesso deve-se provavelmente, à capacidade multielementar desta técnica, em comparação com as outras técnicas bem estabelecidas, como a absorção atômica e a fluorescência de raios-X.
  
- \* Plasma de corrente contínua (DCP, do inglês: "*direct current plasma*"). O plasma de corrente contínua é formado quando a densidade da corrente sobre a superfície de um eletrodo é tão grande que pode ser dissipada por radiação e condução. O plasma é então formado entre dois ânodos de grafite pirolítico e um cátodo de tungstênio com uma configuração em "Y" invertido. A vazão do argônio flui do bloco que contém o ânodo em direção ao bloco do cátodo e o plasma é formado pela indução do cátodo em contato com os ânodos. A ionização do argônio ocorre e desenvolve uma corrente de cerca de 14A que produz íons e sustenta o plasma. A temperatura no DCP é relativamente menor (6000 K) quando comparada a outros plasmas como o ICP (Boumans, 1987). Apesar do custo de um equipamento DCP ser baixo, sua fabricação tem diminuído por causa do alto investimento dado ao equipamento de ICP. É interessante citar que os elementos alumínio, lítio, silício e tálio podem alcançar limites de detecção cerca de dez vezes menores no DCP em relação ao ICP e, em alguns casos, aumentar ainda mais a sensibilidade em presença de altas concentrações salinas.

- \* Plasma capacitivamente acoplado por microondas (CMP, “*capacitively coupled microwave plasma*”). Esse plasma é formado na extremidade de um eletrodo, em um guia de onda coaxial acoplado a um gerador de microondas, um “magnetron”. Seu uso também vem sendo descartado em virtude do grande interesse dado ao ICP.
  
- \* Plasma induzido por microondas (MIP, “*microwave-induced plasma*”). Esse plasma é gerado em um tubo capilar colocado em uma cavidade acoplada a um gerador de microondas. Por apresentar um volume de plasma pequeno e um baixo consumo de potência (200 a 300 W), os equipamentos são menores e por conseguinte mais baratos que os necessários para gerar um ICP. Comumente, esse plasma é usado como um detector seletivo para cromatografia gasosa. Entretanto, como analisador multielementar também vem sendo rejeitado, em função do ICP.

### **III.2. O INSTRUMENTAL ANALÍTICO PARA UM ESPECTRÔMETRO ICP**

O instrumental para um ICP-AES consiste basicamente em: uma fonte de excitação de alta frequência (gerador de radio frequência); um sistema para introdução da amostra (nebulizador e câmara de nebulização); uma tocha (plasma); um sistema de gás; um sistema óptico de detecção; e um sistema computacional para controle do equipamento e gerenciamento dos dados. Esse equipamento pode ainda requerer outros aparelhos para suporte, como amostrador, bomba peristáltica e de refrigeração e sistema para geração de hidretos. Um diagrama de blocos, adaptado de Barnes (1994), figura III.1, ilustra os componentes básicos de um espectrômetro ICP.



**Figura III.1:** Diagrama de blocos correspondente às etapas de uma análise por espectrometria de emissão atômica. As descrições listadas abaixo de cada bloco indicam as variações possíveis dentro da etapa.

### **O Princípio de Funcionamento de um Espectrômetro ICP**

O plasma indutivamente acoplado (ICP) é gerado pelo aquecimento indutivo de um gás, à pressão atmosférica, em geral o argônio, que flui através de um conjunto de tubos concêntricos construídos em quartzo, envoltos por condutores de cobre (bobinas) conectados a um gerador de rádio-freqüência. Esses geradores podem produzir potências entre 700 W e 20 kW e possuem freqüências variáveis entre 2 e 80 MHz (Soltanpour et al., 1982; Boumans, 1987 e Moore, 1989).

Os osciladores ou geradores de rádio-freqüência podem ser de dois tipos: o de freqüência flutuante (*"free-running"*) e o com freqüência fixa, (*"crystal controlled"*). O de freqüência fixa tradicionalmente utiliza a rádio-freqüência em 27,12 MHz ou 40,68 MHz, sendo que essa última tem sido preferida pela diminuição significativa das emissões de fundo, principalmente entre os comprimentos de onda 170 a 300 nm. Essas freqüências são, portanto, analiticamente favoráveis e aprovadas pela Comissão Federal de Comunicações dos Estados Unidos da América (Boumans, 1987). Nos geradores do tipo *"free running"*, a freqüência é sintonizada para um apropriado casamento de impedância e eficiente transferência de potência da bobina para o plasma. A exata influência da freqüência na determinação das propriedades e no

comportamento do plasma tem sido rigorosamente estudada. Sabe-se que a frequência influencia a temperatura de excitação e ionização, a densidade eletrônica, a magnitude e a estabilidade do sinal de fundo.

As correntes de alta frequência que fluem pelos condutores de cobre geram campos magnéticos oscilantes, cujas linhas de força (H) são orientadas axialmente no interior dos tubos de quartzo e obedecem a um caminho elíptico externo aos condutores de cobre (bobina de indução), conforme figura III.2. Os campos magnéticos axiais induzidos por sua vez, forçam os elétrons e íons produzidos por uma descarga de rádio-freqüência (Tesla) a fluírem em trajetórias anulares dentro do tubo de quartzo, que são as correntes de Foucault (I - ver figura III.2). Os elétrons e íons em alta velocidade, que passam através do campo oscilante, fluem em alta velocidade para dentro do tubo de quartzo. Os elétrons e íons são acelerados e a energia é transferida dessas partículas para outros átomos através de colisões. Como o plasma está sob pressão atmosférica e o caminho médio das partículas é curto, a velocidade de colisão é alta, causando um alto grau de excitação e conseqüentemente um aquecimento e ionização, tornando o plasma auto-sustentável. O plasma é iniciado por uma faísca de alta energia através do gás, produzindo íons e elétrons, tornando o gás ionizado um condutor elétrico. O aquecimento posterior do plasma e a manutenção dessas temperaturas são obtidos por aquecimento indutivo.

A escolha do gás argônio se deve a vários fatores como: facilidade de ionização, bom condutor elétrico e custo razoável. As partículas nesse caso, que transferem a energia aos átomos em solução, são os íons  $\text{Ar}^+$ , os átomos excitados de Ar ( $\text{Ar}^+$  e  $\text{Ar}^{2+}$ ) e os elétrons. Como o campo magnético não penetra no plasma uniformemente, o fluxo da corrente fica maior na periferia do plasma e isto produz um gradiente de temperatura. A distribuição de temperaturas dentro do plasma é esquematizada na figura III.3. Pelo fato de a temperatura do ICP formado ser alta, variando de 6000 a 10000 K, o fluxo de gás deve ser suficiente para que o plasma não funda a tocha feita em quartzo. Normalmente, o plasma é isolado termicamente das paredes por um alto fluxo de argônio, denominado gás externo, introduzido tangencialmente, produzindo um fluxo em espirais entre os tubos de quartzo interno e externo (Figura III.2(a) e (b)). Esse fluxo permite isolar

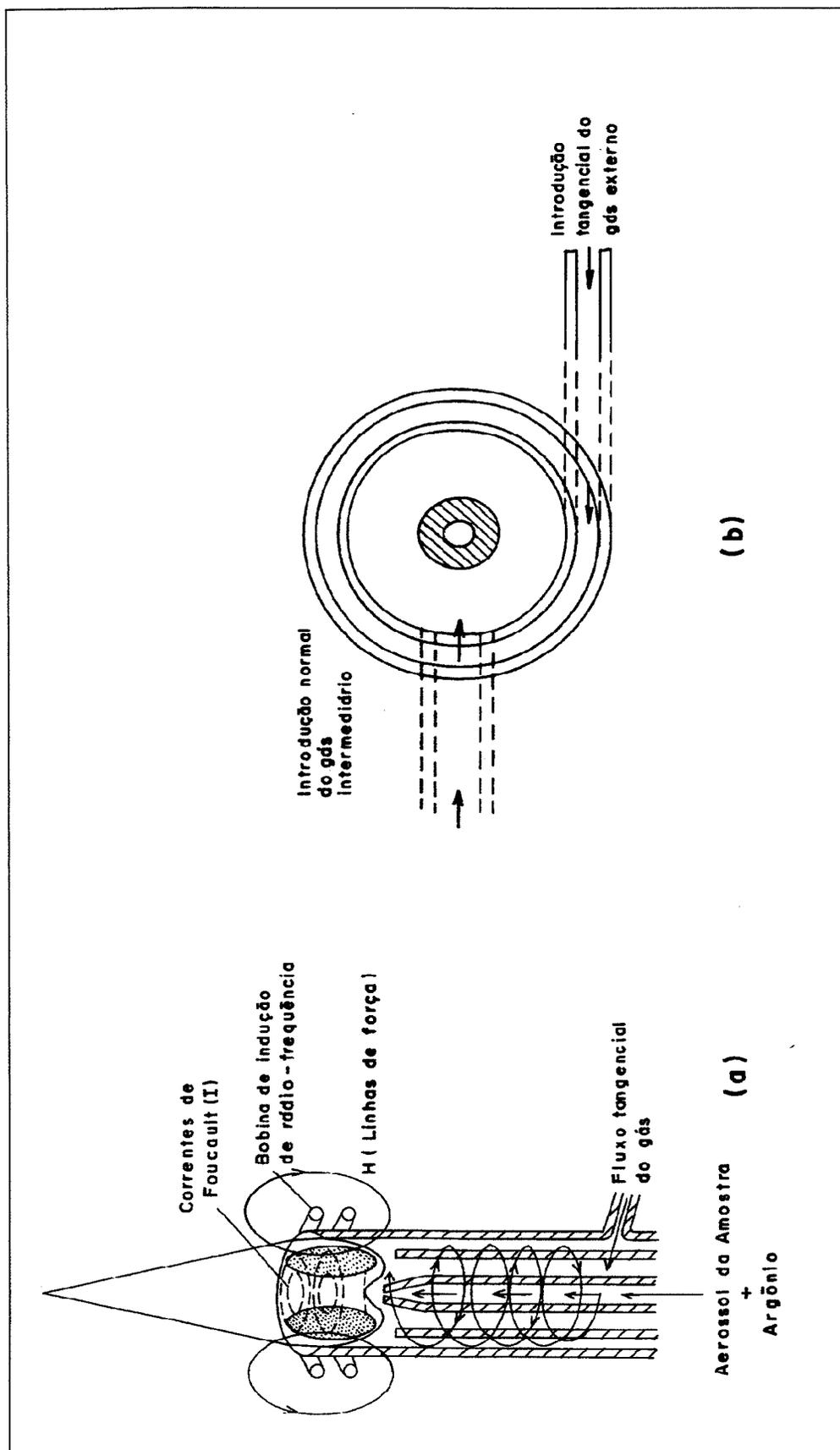


Figura III.2: (a) Corte transversal de uma tocha de um equipamento ICP-AES com as descrições das correntes e linhas de força e (b) vista superior da tocha com o esquema para introdução de gases.

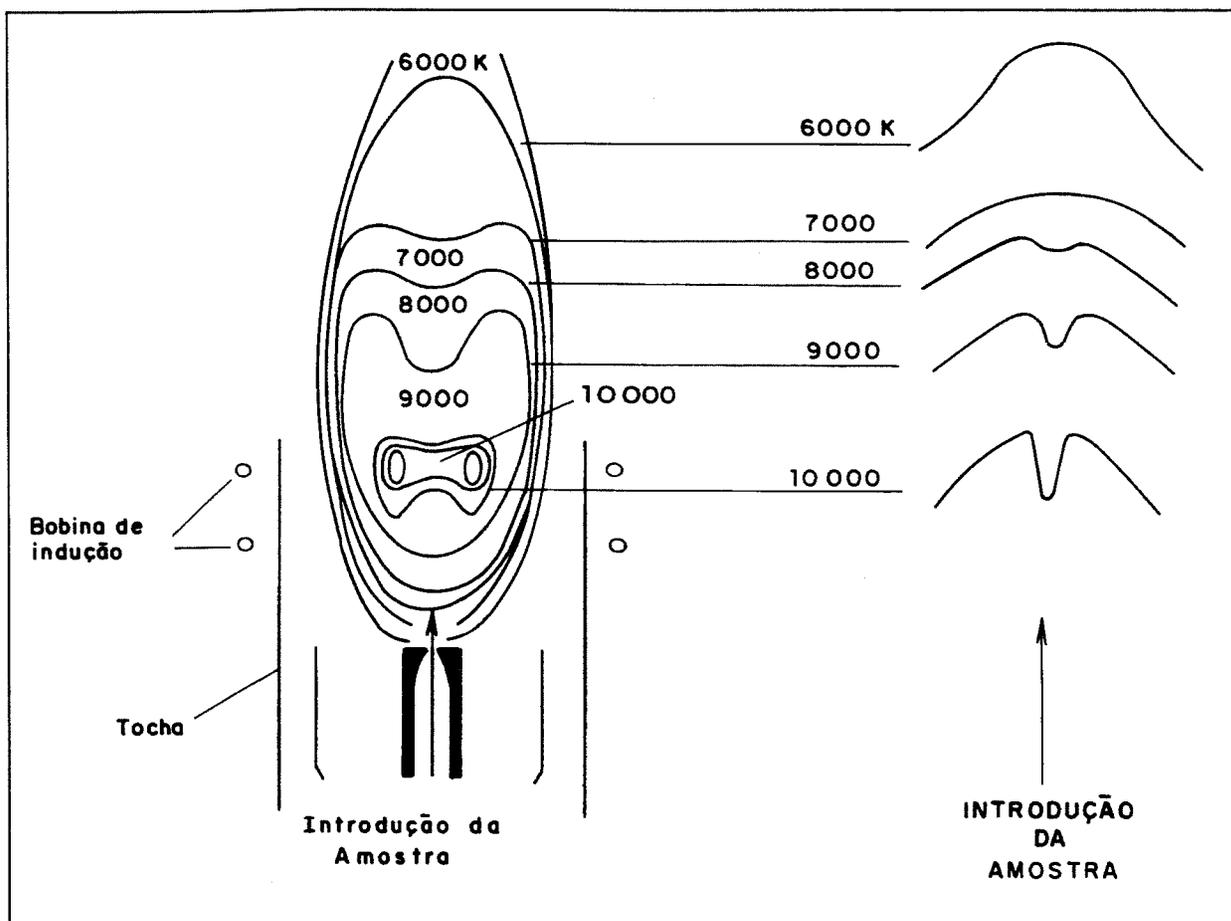
termicamente e estabilizar o plasma. Outro fluxo de argônio é introduzido perpendicularmente à tocha, entre o tubo interno e o injetor, normalmente designado como gás intermediário ou auxiliar. Há ainda o fluxo de gás carregador do aerossol produzido, o qual transporta a amostra até o plasma através do tubo injetor.

A descarga produzida por um ICP pode ser utilizada para diferentes fins, tais como, a emissão atômica, a absorção atômica, a fluorescência atômica ou molecular e a espectrometria de massa. Isto justifica o fato de o ICP ser muitas vezes considerado como uma fonte de excitação universal. Entretanto, comercialmente, não há disponibilidade no mercado de equipamento que utilize o ICP como fonte para absorção atômica ou para fluorescência molecular. Apenas um fabricante produz equipamentos para espectrometria de fluorescência atômica baseado no ICP, com pouco mais de 50 equipamentos instalados (Barnes, 1994). Por outro lado, tem crescido a aplicação comercial do ICP como fonte para a espectrometria de massa (ICP-MS), porém, ainda, pouco empregada em análise de solos e plantas.

Desde 1973, a maior aplicação comercial do ICP foi como fonte de luz para espectroscopia de emissão atômica (ICP-AES). Atualmente, tais equipamentos são encontrados em praticamente todos os laboratórios de análise. As vantagens e desvantagens do ICP-AES estão resumidas no quadro III.1.

### **Sistema Óptico de Dispersão e Detecção**

A radiação emitida pelo plasma necessita de um sistema óptico para a dispersão da luz, um espectrômetro, além de um sistema para a detecção do sinal proveniente do espectrômetro. Basicamente existem dois tipos de espectrômetros, um para medida seqüencial e outro para medida simultânea. Dentre esses há uma grande variedade de montagens ópticas disponíveis no mercado. O tipo de espectrômetro é que irá determinar o modelo do equipamento de ICP-AES, ou seja seqüencial ou simultâneo. A opção por qualquer um dos sistemas deverá ser feita com base nas necessidades analíticas.



**Figura III.3:** Esquema da distribuição de temperatura em um plasma de argônio. Os valores são temperaturas aproximadas dadas em graus Kelvin (Moore, 1989)

O espectrômetro simultâneo apresenta um número fixo de linhas espectrais pré-selecionadas, podendo variar de 20 a 60 canais analíticos. Em uma análise multielementar, essa configuração permite uma medida mais rápida. Os tempos de integração típicos variam de 2 a 10 segundos. Entretanto, não é possível alterar o comprimento de onda fixado, devendo haver muita cautela com relação à escolha das linhas espectrais, para que não haja sobreposições de linhas e interferências espectrais entre os elementos, e levando em consideração as matrizes estudadas.

**Quadro III.1: Principais vantagens e desvantagens do sistema ICP-AES**

---

**VANTAGENS**

---

- ◆ Possibilidade de análise multielementar rápida e simultânea,
- ◆ excelente fonte de emissão por ser opticamente estreita e relativamente livre de interferências químicas, próprias de sua alta temperatura,
- ◆ apresenta curvas de calibração lineares com até 6 ordens de grandeza,
- ◆ apresenta limites de detecção geralmente baixos, normalmente, entre 1 a 100 miligramas por litro ( $\text{mg L}^{-1}$ ),
- ◆ adequada para determinações em diferentes faixas de concentrações ( $\text{mg L}^{-1}$  a  $\text{mol L}^{-1}$ ),
- ◆ boa precisão e exatidão ( com desvio padrão relativo na faixa de 1%),
- ◆ em princípio, poderia ser utilizada para todos os elementos, exceto argônio. Na prática, aproximadamente 70 elementos podem ser determinados,
- ◆ elementos difíceis de serem determinados por absorção atômica, podem ser medidos como: B, C, S, P, La, Ce, Ti, Ta, V e Zr,
- ◆ apresenta bons resultados devido à alta estabilidade do plasma (pouco ruído e emissão de fundo) e
- ◆ não utiliza eletrodos nem gases explosivos.

---

**DESVANTAGENS**

---

- ◇ A amostra deve estar preferencialmente em solução,
  - ◇ efeitos de interferência espectral e física devem ser levados em consideração,
  - ◇ alto custo inicial (as determinações também apresentam custo relativamente alto), e
  - ◇ curvas de calibração com mais de 10 elementos são difíceis de ser obtidas.
-

O sistema seqüencial com um monocromador de varredura apresenta maior flexibilidade. Nesse caso a análise multielementar é lenta, mas com versatilidade de se escolher a linha espectral mais adequada para cada elemento. O uso de diferentes linhas pode acusar a presença de interferências espectrais, o que seria difícil de se verificar em um sistema simultâneo.

Pelo fato de a interferência espectral ser uma das principais limitações do espectrômetro de emissão atômica, fica evidente a necessidade de um sistema onde haja uma melhor resolução espectral, evitando as sobreposições e interferências espectrais. O desenvolvimento das grades de difração provocou um impacto marcante no campo da espectroscopia. Atualmente, as grades de difração holográficas, que são produzidas com sofisticada engenharia, torna-as livre de imperfeições normalmente encontradas em grades comuns ("ruled grades"). Essas grades holográficas podem ser confeccionadas com até 6000 ranhuras por milímetro, o que possibilita melhor resolução espectral sem problemas como "fantasmas" e praticamente isenta de interferências por luz espúria ("stray light").

A configuração óptica empregada normalmente em um sistema simultâneo, é a montagem "Paschen Runge", conforme a figura III.4, com uma fenda de entrada, uma grade côncava e fendas de saída montadas com a geometria de um círculo de "Rowland" com as respectivas fotomultiplicadoras para cada elemento. Esse sistema óptico é conhecido como policromador. O diâmetro do círculo de "Rowland" deve ser igual ao raio de curvatura da grade. A radiação proveniente da grade que passa por fendas fixas é refletida por espelhos e transportada até os tubos fotomultiplicadores. Essas fendas são ajustadas pelo fabricante para transmitir a luz no comprimento de onda das linhas dos elementos escolhidos pelo usuário. Os sinais que chegam à fotomultiplicadora alimentam circuitos eletrônicos que os integram. Esses sinais são correlacionados com as concentrações de soluções conhecidas dos elementos estudados. A fenda de entrada pode ser movida tangencialmente ao círculo de "Rowland" por um motor de passos. Isso permite uma varredura em torno dos picos que providenciam as informações sobre a correção de fundo. (Skoog e Leary, 1992). Alguns modelos de espectrômetros ICP simultâneo, como o Jobin Yvon JY50P utilizado neste

trabalho, oferecem ainda um sistema fino de varredura ao redor do comprimento de onda fixado, de cerca de aproximadamente 4 nm, que pode buscar outras linhas espectrais menos sensíveis ou sem problemas de interferência de outros elementos. Existem outros equipamentos que usam grade de dispersão espectral em duas dimensões e dispositivos de detecção do tipo de um arranjo de diodos. Esses sistemas podem apresentar vantagens sobre os policromadores com fendas de saída fixas mas, na prática, requerem tempos de integração maiores para melhor precisão. O tempo de análise é portanto comparável ou maior que aquele obtido usando os espectrômetros de leitura direta convencionais.

A montagem tipo "Czerny Turner" é a mais freqüentemente usada para os monocromadores de varredura e a mais empregada em aparelhos ICP do tipo seqüencial. Nessa montagem a grade é plana e móvel e o seu movimento é feito por um motor de passo, onde cada passo geralmente corresponde a 0,007 nm (Figura III.5). Normalmente são disponíveis duas grades, uma para a região do espectro entre 175 e 460 nm e outra para a região de 460 a 900 nm.

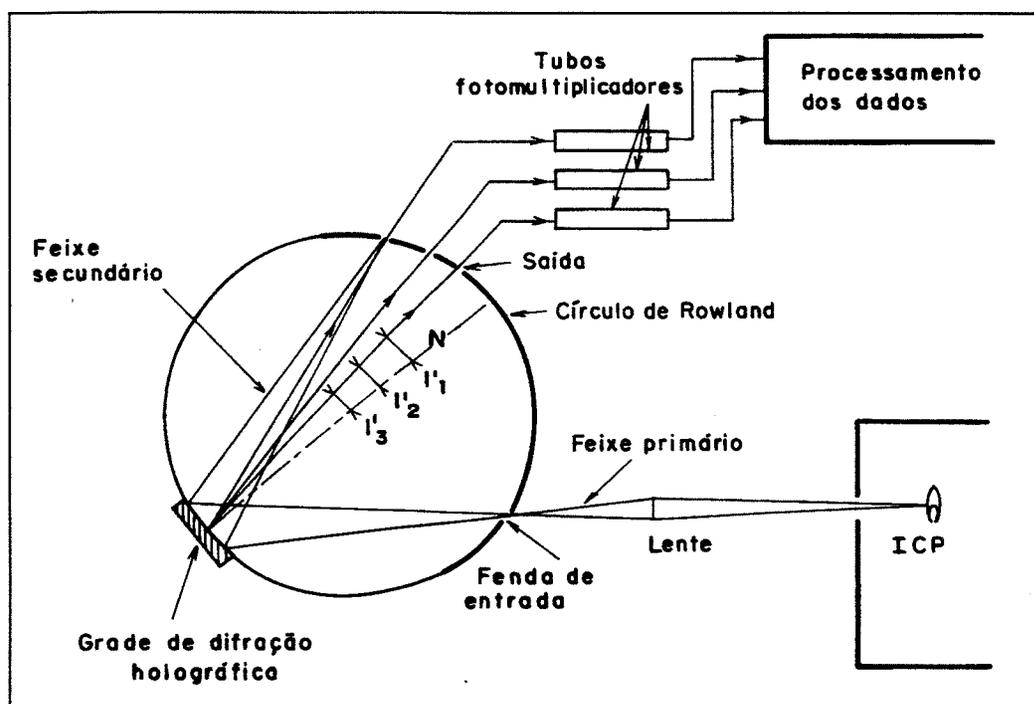


Figura III.4: Montagem óptica de um equipamento simultâneo do tipo "Paschen Runge", usando a geometria de um círculo de "Rowland".

Esses equipamentos não podem operar em comprimentos de onda abaixo de 170 nm devido à absorção da radiação pelas partes ópticas construídas em sílica. Na região de 170 a 200 nm (região do ultravioleta longínquo), o monocromador deve ser mantido sob vácuo ou em ambiente com fluxo de argônio ou nitrogênio (purga), para remover o oxigênio do sistema óptico, que absorve luz desta faixa de comprimento de onda. A possibilidade de se trabalhar nessa região do espectro aumentou a versatilidade da técnica ICP-AES, pois elementos como o enxofre, o nitrogênio, o fósforo e o boro, que apresentam linhas abaixo de 200 nm, podem ser facilmente determinados.

Uma vez isolada a linha de emissão pelo espectrômetro, a detecção é feita para determinar a intensidade da radiação usando-se, geralmente, tubos fotomultiplicadores ou arranjos de fotodiodos. As fotomultiplicadoras são bastante sensíveis e acopladas aos sistemas de leitura eletrônica, permitem uma resolução de mais de um em um milhão, sendo portanto, consideradas um excelente sistema de detecção para ICP-AES (Moore, 1989).

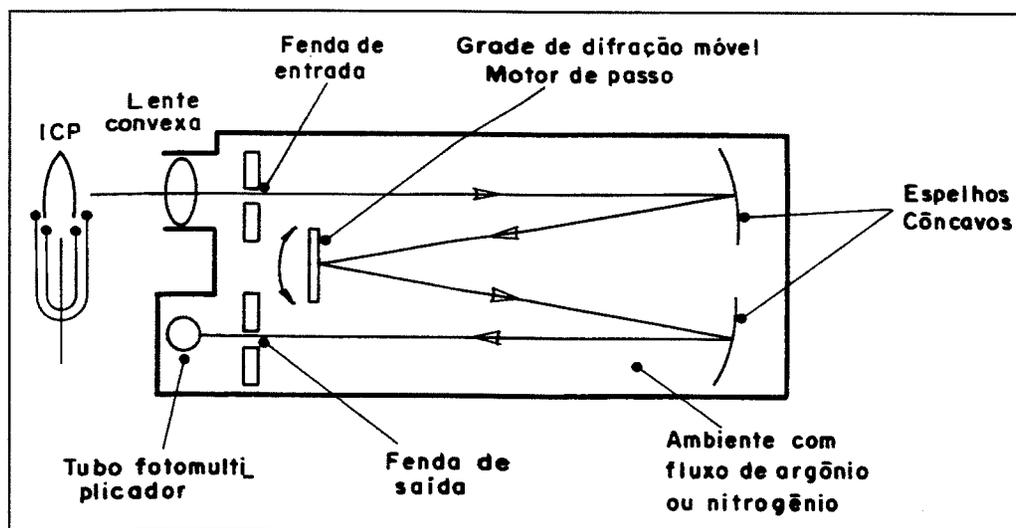


Figura III.5: Montagem óptica de um sistema "Czerny Turner" para um espectrômetro seqüencial (Moore, 1989).

Sem dúvida, os equipamentos simultâneo, seqüencial ou mesmo a combinação de ambos, exigem o uso de computadores na automação de todos os procedimentos necessários para a realização das medidas. No caso específico de análises de rotina de plantas e solos, nas quais se trabalha com uma grande quantidade de amostras similares e determina-se a concentração de elementos bem definidos, a preferência deve ser por um equipamento do tipo simultâneo. Um esquema básico de montagem de um sistema simultâneo está descrito na figura III.6.

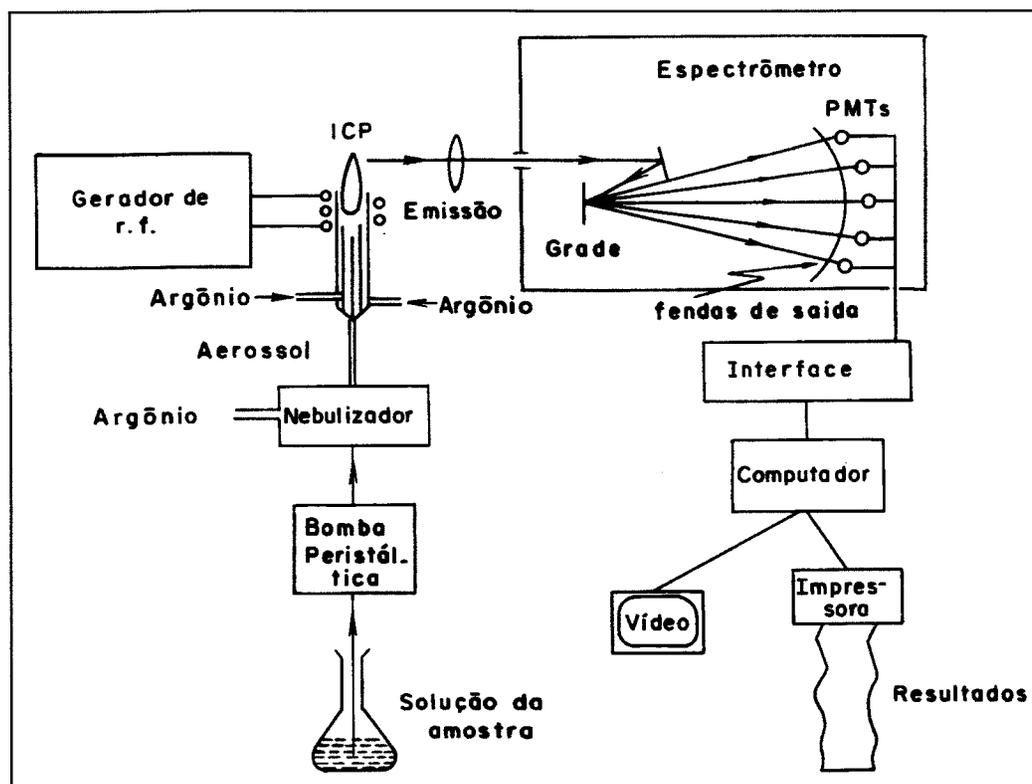


Figura III.6: Esquema básico de um espectrômetro de emissão atômica simultâneo (Moore, 1989).

### **Sistema de Introdução da Amostra**

Uma das etapas consideradas bastante crítica na técnica de espectroscopia atômica é a introdução da amostra dentro do atomizador. Muitas vezes é referida como o "Calcanhar de Aquiles" dessa técnica (Browner e Boorn, 1984), pois se a amostra não alcançar o atomizador de forma eficiente não será possível analisá-la.

Há diferentes técnicas para a introdução de amostras líquidas, gasosas e sólidas em um plasma do tipo ICP. As amostras gasosas podem ser colocadas diretamente no plasma ou através da técnica de cromatografia gasosa. As amostras sólidas não são muito usadas, apesar dos recentes avanços tecnológicos como a vaporização a LASER, pois a quantidade de amostra atomizada é muito pequena e nem sempre representativa. Normalmente, as amostras sólidas são passadas por processos de dissolução, digestão ou extração e então introduzidas na forma de uma solução. As amostras aquosas são introduzidas através de nebulizadores, que geram os aerossóis. Esse aerossol, por sua vez é introduzido em uma câmara de nebulização, para selecionar e uniformizar as gotículas. A seguir é injetado no interior do plasma, para atomização e excitação. As etapas que envolvem a introdução da amostra líquida ou sólida até o processo de emissão está apresentada na figura III.7. Os critérios para o bom desempenho do sistema de introdução da amostra são os seguintes:

*o aerossol deve ser fino com partículas uniformes e menores que 10  $\mu\text{m}$ ,  
a vazão do gás de arraste deve ser estável e suficiente para o transporte e  
os processos que envolvem a dissolvatação, vaporização e atomização no  
plasma devem ser rápidos.*

As diferentes características da solução da amostra como a viscosidade e os teores de ácidos, de sais e de sólidos, são propriedades que também afetam sensivelmente a eficiência da nebulização. A opção por um determinado tipo de nebulizador deve ser sempre baseada nas características particulares da matriz e do método de digestão ou de extração das amostras (Smith e Denton, 1990).

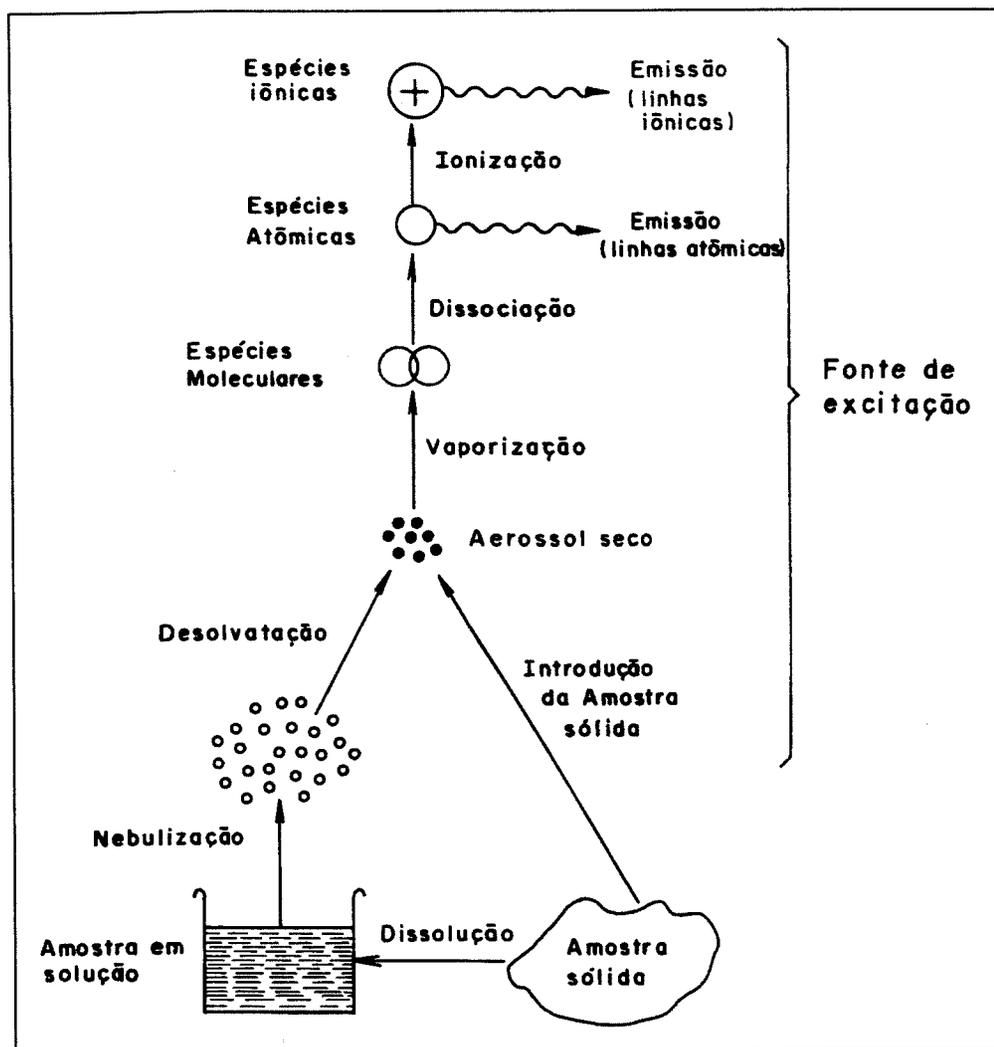


Figura III.7: Etapas correspondentes à introdução de amostra até o processo de emissão atômica (Moore, 1989)

Os nebulizadores mais comumente empregados em espectrometria de emissão atômica são os pneumáticos e os ultra-sônicos. Em um nebulizador ultra-sônico a solução da amostra é bombeada sobre um transdutor piezelétrico que produz uma vibração gerando o aerossol, cujas partículas formadas são menores que  $10\ \mu\text{m}$  (Figura III.8). A proporção de aerossol gerado num nebulizador ultra-sônico é maior que em um pneumático e por isso a sensibilidade da medida pode alcançar valores até quatro vezes maiores que os usuais. Isso leva a limites de detecção muito menores que os normalmente observados em ICP-AES, mas a falta de estabilidade, a sensibilidade do

nebulizador a pequenas variações nos parâmetros de operação (Moore, 1989), além de problemas como os efeitos de memória e o alto custo, fazem com que o uso desse tipo de nebulizador seja mais difícil para análises de rotina.

Os nebulizadores pneumáticos são classificados, de um modo geral, em três tipos: o concêntrico, o de fluxo-cruzado ("cross-flow") e o tipo "Babington" (Sharp, 1988a). O nebulizador concêntrico de vidro, comercialmente conhecido como "Meinhard" e o nebulizador "cross-flow" são, atualmente, os mais utilizados em ICP-AES. O nebulizador "Meinhard" consiste em um corpo externo de vidro, no qual flui o gás de arraste e um capilar interno por onde passa a solução da amostra. O aerossol é formado na extremidade, onde o gás flui a uma velocidade supersônica e consegue romper a solução do capilar pelo princípio de "Bernouille", de acordo com a figura III.9(a), produzindo pequenas gotículas na interface gás-solução da amostra (Smith e Denton, 1990).

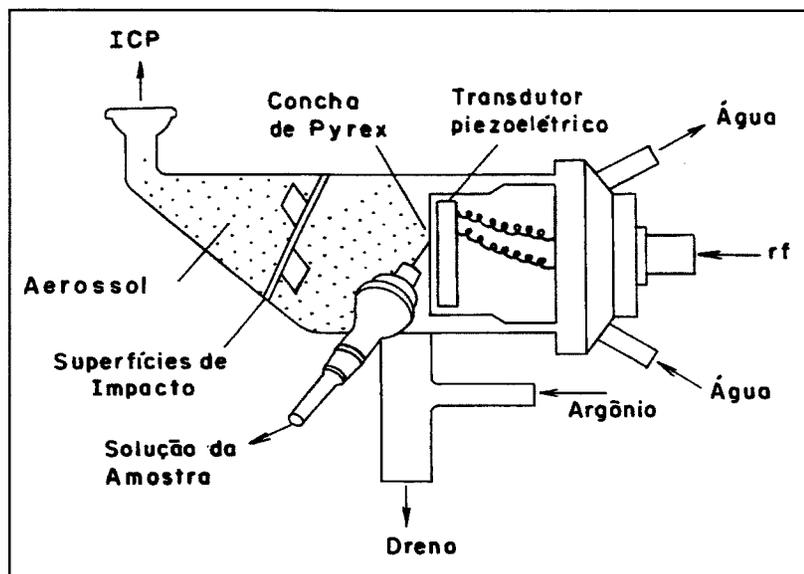
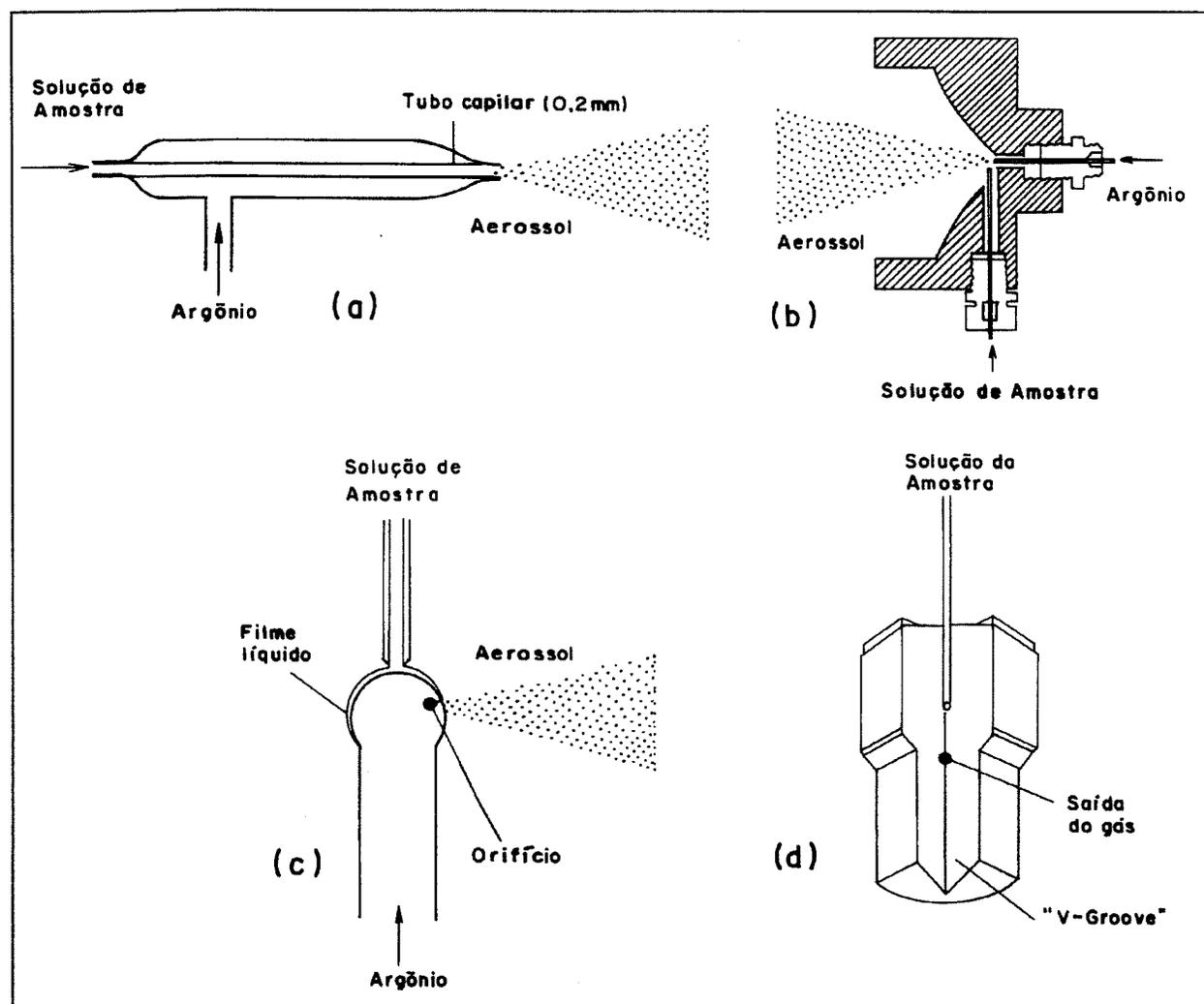


Figura III.8: Desenho de um nebulizador tipo ultra-sônico

O nebulizador de fluxo cruzado, descrito na figura III.9(b), como o próprio nome diz, utiliza um fluxo de solução de amostra e um fluxo do gás carregador que se cruzam em um ângulo de  $90^\circ$ , produzindo o aerossol. Embora este modelo seja mais tolerante a soluções salinas, quantidades superiores a 1% de teor salino podem causar entupimentos, reduzindo a quantidade de aerossol produzida. Este nebulizador pode ser encontrado sob diferentes formas (ajustável ou fixo) e sob diferentes materiais (metal ou vidro) e exige o posicionamento muito preciso dos tubos de entrada de gás e líquido (Browner e Boorn, 1988).

O nebulizador baseado no princípio de "Babington", figura III.9(c), foi inicialmente introduzido com sucesso por Fry e Denton (1977) em espectroscopia atômica. Dentre os do tipo concêntricos, foi o modelo que mais sofreu modificações para que pudesse ser empregado em ICP-AES. O tipo "V-groove", figura III.9(d), patenteado por Suddendorf e Boyer (1978) e o tipo "glass-frit" descrito por Layman e Lichte (1982) são os mais comuns. O princípio de "Babington" envolve uma ruptura violenta do filme de líquido da solução de amostra, pela passagem do gás de arraste através de um pequeno orifício, produzindo o aerossol. A solução de amostra não passa por orifícios muito estreito, permitindo que se trabalhe com soluções com alto teor salino ou mesmo com sólidos em suspensão (Andrade et al., 1990). No modelo "V-groove", o filme líquido da solução da amostra é direcionado para dentro de uma ranhura em forma de "V", conforme a figura III.9(d). Os projetos e formas dos nebulizadores para ICP-AES têm sido feitos a partir de estudos empíricos, baseados exclusivamente nas respostas analíticas (Boumans, 1987).

Dentre os diversos fatores para avaliar o desempenho dos nebulizadores, a eficiência de transporte da introdução de amostra é a mais empregada. A eficiência de transporte é a razão percentual entre a quantidade da amostra que chega ao plasma e a quantidade aspirada da amostra, proporcionada pelo sistema de nebulização. Em geral, o valor é muito baixo, variando de 0,5 a 1,5% para os nebulizadores pneumáticos, enquanto que para os ultra-sônicos pode alcançar valores da ordem de 90% (Sharp, 1988a).



**Figura III.9:** Diagrama esquemático de alguns nebulizadores pneumáticos. (a) concêntrico, tipo "Meinhard"; (b) fluxo cruzado "cross-flow"; (c) "Babington" e (d) "V-groove".

Um dos maiores inconvenientes associados ao uso do ICP-AES é o entupimento do sistema de nebulização. Os nebulizadores pneumáticos concêntricos, comercialmente conhecidos como "Meinhard", são os que apresentam nebulização mais eficiente, no entanto, são os mais propensos a sofrerem entupimentos, tanto pela cristalização de sais como por partículas sólidas, formadas por nucleação nos extratos. Os nebulizadores tipo "Babington",

apesar da menor eficiência de transporte, permitem a introdução de sais e partículas sólidas sem causar entupimentos.

Smith e Denton (1990), testando diferentes nebulizadores, incluindo três modelos do “Meinhard” e um “V-groove”, concluíram que em relação aos entupimentos, o “Meinhard” não foi capaz de nebulizar uma solução 50% de cloreto de sódio por 15 minutos. Uma introdução mais extensa provocou o entupimento do tubo injetor do plasma antes que os demais nebulizadores testados apresentassem problemas de bloqueio.

Pelo fato de os extratos de solo e plantas possuírem sólidos em suspensão e teor salino relativamente altos, neste estudo testou-se a possibilidade de se trabalhar rotineiramente com um nebulizador “V-groove” no ICP-AES.

O aerossol produzido pelo nebulizador apresenta gotículas de diferentes tamanhos e se classifica em:

*aerossol primário - formado imediatamente na saída do nebulizador,*

*aerossol secundário - formado logo após o impacto com uma superfície e*

*aerossol terciário - o mais importante e é o que atingirá o plasma; apresenta gotículas mais uniformes e menores que 10  $\mu\text{m}$ , após passarem pelos estágios da ação da gravidade, turbulência, impactação ou evaporação.*

Todos estes processos ocorrem em uma câmara de nebulização, conhecida como câmara de “spray” ou câmara de aerossol, cuja função principal é remover as gotículas grandes que causam instabilidade no plasma. O projeto da câmara de aerossol deve ser capaz de modificar o tamanho das gotículas do aerossol gerado pelo nebulizador. Além disso, outros fatores são importantes na confecção da câmara, como ter uma forma que evite problemas de memória entre amostras e ter um sistema de drenagem que não comprometa a pressão do plasma (Sharp, 1988b).

Diversas formas e desenhos da câmara de aerossol podem ser encontradas na literatura, mas o modelo comercialmente mais utilizado é a câmara de aerossol de passagem dupla (do inglês “double pass”) ou também conhecida como câmara de “Scott”. A figura III.10 descreve uma montagem do sistema de nebulização do equipamento JY 50P, composto por nebulizador,

câmara de nebulização (tipo "Scott"), sifão em "U" para dreno, entrada de gás argônio "sheath gas" e a tocha desmontável.

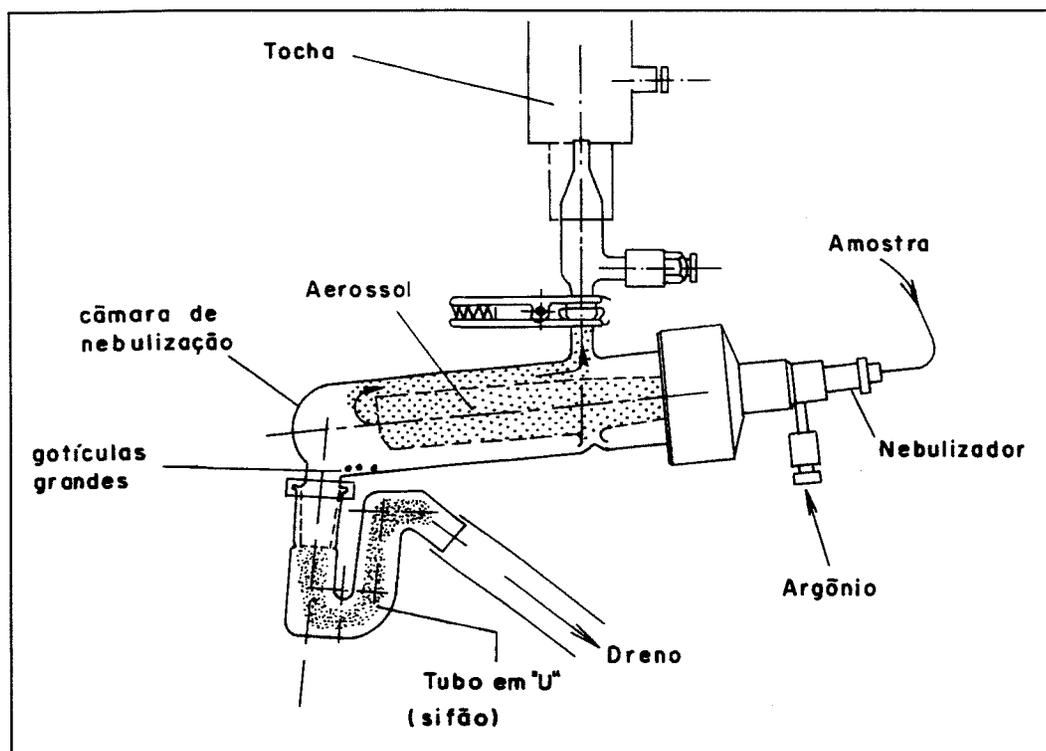


Figura III.10: Montagem de um sistema de introdução de amostra do equipamento JY 50P, composta de um nebulizador, uma câmara de nebulização ("Scott"), um tubo para drenagem e a tocha.

### III.3. INTERFERÊNCIAS POSSÍVEIS EM UM ICP-AES

A técnica de ICP-AES tem sido normalmente citada como livre de interferências, isso porque em comparação a outras técnicas de emissão ou de absorção atômica, apresenta um número bem reduzido de interferências.

Em geral, as interferências para o ICP-AES podem ser agrupadas em interferências espectrais e não-espectrais. As interferências não espectrais, por

estarem diretamente relacionadas com a amostra, são muitas vezes designadas como efeitos de matriz e podem ser causadas pelo sistema de nebulização, de transferência e dessolvatação, e por fenômenos químicos, de ionização e de atomização e volatilização. Embora haja evidências da existência dessas interferências, há grande dificuldade na sua determinação em um sistema de emissão atômica.

As interferências provenientes do sistema de nebulização, também conhecido como fenômenos de transporte, são os únicos fatores que podem afetar a quantidade da amostra no plasma. Os mais importantes estão relacionados com a diferença de viscosidade e, portanto, com a temperatura da solução, e com a diferença de tensão superficial entre amostras e os padrões (ex. conteúdo salino, acidez, presença de compostos orgânicos, etc.). Esse tipo de interferência pode ser minimizado cuidando para que a composição e temperatura dos padrões sejam as mais próximas possíveis das amostras e utilizando uma bomba peristáltica para manter constante a vazão da amostra.

As interferências de transferência e desolvatação são resultantes do mecanismo de geração do aerossol no nebulizador e estão associadas à distribuição do tamanho das gotículas do aerossol, principalmente quando em presença de algum elemento contaminante. A diminuição da intensidade de uma linha espectral pela formação de radicais ou moléculas devido à presença de um outro elemento é denominada interferência química, porém raramente ocorre num ICP em decorrência da alta temperatura do plasma.

Uma das interferências mais significativas e mais estudadas (Moore, 1989) dentre as dependentes da matriz, é a de ionização, que se relaciona com a presença de elementos facilmente ionizáveis. Embora essa interferência tenha sido inicialmente descrita para os elementos com baixa energia de ionização, é atualmente reconhecida como um fenômeno geral.

A interferência espectral é um dos grandes problemas na técnica de ICP-AES e inclui a sobreposição de linhas espectrais, a luz espúria ("stray light") e a baixa resolução do sistema óptico.

A luz espúria é considerada como qualquer radiação registrada pelo sistema de detecção e que não seja proveniente de espécies químicas presentes

na zona de excitação do plasma. Podem ser associadas aos espalhamentos ou reflexões da radiação no sistema óptico (espelhos, grades de difração, fendas ou outras superfícies). As causas desses efeitos podem ser as radiações provenientes do ambiente, partículas de poeira, entre outras. Os filtros adicionados na fenda de entrada servem para barrar radiações indesejáveis e contribuem para minimizar os efeitos da luz espúria (Ingle e Crouch, 1988). Atualmente, com o desenvolvimento das grades holográficas e com a pintura interna do espectrômetro com tinta não reflexiva, os problemas com a luz espúria têm sido minimizados.

A sobreposição espectral pode ser de três tipos: (i) direta, quando as linhas são coincidentes ou quando as bandas se sobrepõem; (ii) parcial ("wing"), quando as sobreposições ocorrem parcialmente e (iii) contínua ou de fundo, quando a intensidade da emissão de fundo aumenta com o aumento na concentração de um interferente.

A sobreposição direta não poderá ser facilmente resolvida, a não ser pelo uso de outra linha livre da interferência, enquanto que a parcial pode ser resolvida com grades que permitam maior resolução espectral. Em decorrência desses fatos, a seleção da linha espectral é de suma importância, principalmente quando se opta por um sistema policromador com canais fixos.

Todos os tipos de interferências podem afetar a curva de calibração de duas formas diferentes:

*Interferência aditiva ou translacional - é devida ao aumento da intensidade da radiação de fundo ou da sobreposição de linhas espectrais. O coeficiente linear (interseção) da curva de calibração varia sem alterar o coeficiente angular (inclinação).*

*Interferência multiplicativa ou rotacional - é influenciada pela matriz, podendo aumentar, diminuir ou até suprimir o resultado de uma análise. Neste caso a interseção não varia, mas a sensibilidade (inclinação) muda.*

A aditiva pode ser controlada através de procedimentos computacionais, quando não há possibilidade de se usar uma linha alternativa. Com respeito à multiplicativa, as mudanças nas condições de operação do nebulizador e do plasma, a similaridade das condições das soluções de calibração com as

amostras e a aplicação do método de adição padrão, são maneiras para minimizar essas interferências.

#### III.4. CÁLCULO DO LIMITE DE DETECÇÃO PARA UM ICP-AES

O limite de detecção é uma consideração importante, pois providencia ao analista a possibilidade de estimar com alguma precisão um elemento com baixo nível de concentração. De acordo com Winefordner et al. (1994), Kaizer foi um dos primeiros cientistas que descreveram algumas teorias sobre o limite de detecção

para métodos espectrográficos. Convencionalmente o limite de detecção para um determinado elemento é a quantidade mínima ou concentração que pode ser detectada por um dado procedimento analítico. No caso da espectroscopia, o limite de detecção é definido como o menor sinal que pode ser diferenciado das flutuações do ruído de fundo em um determinado nível de confiança. (Moore, 1989).

Por meio de cálculo numérico pode-se estabelecer o limite de detecção como:

$$c_L = \frac{k \sigma_b}{S} \quad (\text{III.1})$$

e sendo:

$$S = \frac{\chi_a}{c_0} \quad (\text{III.2})$$

portanto:

$$c_L = \frac{k \sigma_b c_0}{\chi_a} \quad (\text{III.3})$$

onde:  $c_L$  é o limite de detecção,  $\sigma_b$  é o desvio padrão do branco,  $S$  é a sensibilidade do método,  $\chi_a$  é o sinal analítico na concentração do limite de

detecção,  $c_0$  é a concentração do branco e  $k$  é uma constante. O valor numérico do valor  $k$  pode ser: 2,  $2\sqrt{2}$  ou 3. A IUPAC (Thompson, 1987) recomenda o uso do fator 3, pois a experiência tem mostrado que é a opção mais apropriada. O desvio padrão é determinado pela medida da variação do sinal, usando uma solução do branco, fazendo com que a equação fique limitada ao ruído. (Boumans, 1994). Para fins estatísticos recomenda-se pelo menos 20 determinações do sinal de fundo para determinação do desvio padrão (Thompson, 1987 e Boumans, 1991)

Uma outra forma de se calcular o limite de detecção foi inicialmente elaborada por Kaizer em 1947 (Prudnikov et al. 1994), e posteriormente aperfeiçoada por Boumans (1991), envolvendo o sinal de fundo, e é conhecida como: "SBR-RSDB approach" que significa em inglês "Signal-to-Background Ratio - Relative Standard Deviation of the Background". Essa nova aproximação facilita comparações entre sistemas diferentes. Para efeito de cálculo devemos dividir o numerador e denominador da equação III.3 pelo sinal do fundo,  $\chi_b$ :

$$c_L = \frac{k c_0 \sigma_b}{\chi_a / \chi_b \chi_b} \quad (III.4)$$

Sabendo-se que  $100 \sigma_b / \chi_b = \text{RSDB}$ , desvio padrão relativo do fundo e que  $\chi_a / \chi_b = \text{SBR}$ , razão entre o sinal e o fundo, temos que:

$$c_L = k \, 0,01 \text{ RSDB} \frac{c_0}{\text{SBR}} \quad (III.5)$$

Freqüentemente,  $c_0 / \text{SBR}$  é denominada concentração equivalente do fundo (BEC), portanto:

$$c_L = k \, 0,01 \text{ RSDB BEC} \quad (III.6)$$

Evidentemente, esta última equação resultará nos mesmos valores do limite de detecção proveniente da equação III.1. A diferença está na facilidade em se determinar o limite de detecção, pela equação III.4, em quantidades facilmente mensuráveis. As funções SBR e RSDB podem ser determinadas para qualquer sistema e expressas em função das variáveis físicas do sistema.

Portanto, essa equação permite uma comparação imparcial entre diferentes equipamentos (Boumans, 1994).

A função SBR depende de dois conjuntos distintos de variáveis instrumentais: a fonte e o espectrômetro. A fonte está associada à largura da banda da linha espectral, cujos parâmetros são: a temperatura, a eficiência do transporte de amostra, o tipo de descarga e o fluxo do gás. A determinação da largura da banda espectral do espectrômetro pode ser estimada como o produto da fenda espectral pela dispersão linear recíproca (Boumans, 1994).

Com relação à função RSDB, essa pode ser medida diretamente pela contribuição do ruído sob condições representativas do equipamento em questão ou calculada pela contribuição do ruído através de coeficientes que representam o ruído de fundo proveniente da fonte e do nebulizador, o ruído do espectrômetro (fóton) e o ruído do detetor.

Esses cálculos se referem exclusivamente ao ICP-AES e às medidas usando fotomultiplicadoras como detetor, entretanto a teoria pode ser estendida a outras fontes e detetores (Boumans, 1991 e 1994).

O equipamento utilizado neste estudo, um ICP-AES da marca Jobin Yvon, fornece diretamente os valores de BEC para cada curva de calibração facilitando portanto, a avaliação do limite de detecção para cada elemento em cada método estudado. Para a utilização do valor de BEC no cálculo do limite de detecção, as medidas de intensidade devem ser tomadas sem o desconto da emissão de fundo.

---

## **IV. MATERIAL E MÉTODOS**

---

### **IV.1. SOLUÇÕES**

Todas as soluções utilizadas no desenvolvimento deste trabalho foram preparadas com reagentes de grau analítico em água deionizada. A água deionizada foi preparada através de um sistema Nanopure, a partir de água destilada.

Os ácidos concentrados utilizados neste estudo foram: ácido nítrico (65% v/v -Merck), ácido clorídrico (37% v/v-Merck) e ácido perclórico (70% v/v-Merck) e o peróxido de hidrogênio (30% v/v-Merck).

As soluções-padrão de trabalho para uso em um espectrômetro ICP simultâneo necessitam ser multielementares. Desta forma, as soluções-padrão de trabalho foram preparadas utilizando alíquotas de soluções intermediárias que continham os elementos de interesse. A solução intermediária, por sua vez, foi preparada a partir das soluções estoque padrão de 1000 mg L<sup>-1</sup> ou 5000 mg L<sup>-1</sup> (Spex ou Merck) dos elementos em estudo. As diluições para todas as soluções foram feitas com o solvente empregado em cada procedimento e as soluções foram estocadas em frascos de polipropileno, principalmente as empregadas na extração e determinação de boro.

As quantidades e concentrações de cada elemento utilizadas para a preparação das soluções de trabalho estão descritas no Apêndice I.

Todo o material de vidro e plástico foi lavado com detergente, água e imerso em solução de  $\text{HNO}_3$  10% v/v por pelo menos vinte e quatro horas e novamente lavado com água deionizada. Os frascos de Teflon PFA do sistema de microondas CEM foram lavados normalmente sem o uso de escovas para não danificar o material. Posteriormente, foram adicionados 10 mL de uma solução 50% v/v de ácido nítrico em cada frasco, que foram então fechados e colocados no forno de microondas durante dez minutos na potência máxima (600 W). Após o resfriamento, os frascos foram abertos e lavados com água deionizada.

As soluções específicas empregadas em cada procedimento estão descritas nos métodos correspondentes dados a seguir.

## **IV.2. INSTRUMENTAL**

No processamento das amostras usadas para a determinação de boro em solos foi usado um forno microondas doméstico com prato giratório (Sharp Carousel-SM) com potência máxima de 700 W, sacos de polipropileno transparentes (densidade 0,05) de tamanho 15 x 25 cm e um sistema de refluxo fabricado em vidraria especial isenta de boro (Vidrolabor-G40).

As amostras de plantas, processadas pelo método da via úmida usando microondas para aquecimento, foram decompostas em um forno de microondas CEM modelo MDS-2000, com potência máxima de 600 W e equipado com bandeja rotatória de 12 frascos com capacidade de 120 mL cada e válvulas de segurança que suportam até cerca de 1,37 MPa (200 psi) de pressão.

As determinações espectrofotométricas foram feitas em um espectrofotômetro de duplo feixe Hitachi, modelo U-2000, com cela de fluxo de 10 mm de caminho óptico e acoplado a um amostrador automático randômico Gilson.

As determinações por ICP-AES foram feitas em um espectrômetro de emissão atômica da marca Jobin Yvon, modelo JY 50P simultâneo, com sistema

de correção de fundo e acoplado a um amostrador automático Gilson. Os parâmetros e as condições de operação deste aparelho estão listados no quadro IV.1. As linhas espectrais para cada elemento determinado estão mencionadas no quadro IV.2.

**Quadro IV.1:** : Especificações e parâmetros de operação do sistema ICP-AES

Frequência	40,68 MHz
Potência	1000 W
Monocromador	Paschen-Runge
Grade	3600 ranhuras/mm
Tempo de integração	5 s
Número de leituras	5
<b>GASES</b>	
	<b>Vazões dos gases</b>
Alimentação do PLASMA	12 L min <sup>-1</sup>
Auxiliar para Alcalinos(G2)	0,2 L min <sup>-1</sup>
Nitrogênio (policromador)	0,6 L min <sup>-1</sup>
<b>NEBULIZADORES</b>	
<b>V-GROOVE</b>	
Pressão	240 kPa
Vazão amostra	1,5 mL min <sup>-1</sup>
Vazão gás auxiliar(G1)	0,3 L min <sup>-1</sup>
<b>MEINHARD</b>	
Pressão	300 kPa
Vazão amostra	1,0 mL min <sup>-1</sup>
Vazão gás auxiliar(G1)	0,3 L min <sup>-1</sup>

**Quadro IV.2:** Comprimentos de onda utilizados no ICP-AES para os elementos determinados nos extratos de plantas e solos.

Elemento	$\lambda$ (nm)
P	178,225
Ca	317,933
Mg	279,940
Mn	257,610
Fe	259,940
Cu	324,754
Zn	213,856
Pb	220,353
Cd	226,502
Ni	231,604
Cr	267,716
Al	308,215
S	180,672
B	208,959
K	766,490

### **Calibração do Forno de Microondas**

Foram pesadas 1000 g de água deionizada em um copo de Teflon, e mediu-se a temperatura da água, com precisão de 0,1°C. Esta deve estar entre 19°C e 25°C. O copo foi colocado no centro do aparelho de microondas e programado para exatos dois minutos na potência máxima. Deve-se certificar que o copo permaneça girando no interior do forno durante o aquecimento. O copo foi removido, a água agitada e a temperatura medida novamente.

### CÁLCULO DA POTÊNCIA

A potência é calculada através da equação II.1,

$$P = \frac{K C_p m \Delta T}{t}$$

Portanto, para a potência máxima com  $t = 2$  min e 1000 g de água deionizada a equação pode ser simplificada para:

$$P = 34,87 \Delta T,$$

sendo  $\Delta T$  a diferença entre as temperaturas depois e antes do aquecimento no forno de microondas, medidas em graus centígrados.

Para as calibrações feitas com potências diferentes da máxima, as correções foram feitas como se segue:

$$P = \frac{100(34,87) \Delta T}{\%P}$$

onde, %P= porcentagem da potência usada

Outros detalhes sobre teoria das microondas estão descritos no ítem II.4.

### IV.3. EXTRAÇÃO DE BORO DO SOLO

Pela não disponibilidade de amostras certificadas de solo para fins de fertilidade, foi feita uma comparação entre o método convencional (Berger e Troug, 1939) e o método proposto neste trabalho. Foram utilizadas treze amostras de solo superficiais, de profundidade 0-20 cm, provenientes de diversas regiões do Estado de São Paulo, com diferentes características químicas e físicas. As amostras foram secas a 40°C em estufa com ventilação forçada, moídas em moinho tipo martelo (Tecnal) e passadas em peneira com abertura de 2 mm. A caracterização das amostras de solo empregadas foram feitas usando os métodos analíticos de rotina do laboratório do IAC, de acordo com Raij et al. (1987). Os valores de pH foram determinados em solução de cloreto de cálcio

0,01 mol L<sup>-1</sup>, a matéria orgânica pelo método colorimétrico (Quaggio e Raij, 1979), os elementos fósforo, cálcio, magnésio e potássio pelo método da resina de troca iônica (Raij et al., 1987 e Facchin et al., 1993) e finalmente os valores de hidrogênio mais alumínio (H<sup>+</sup> + Al<sup>+3</sup>) foram obtidos pela solução tampão SMP (Quaggio et al., 1985).

### **Métodos de Extração de Boro**

#### *MÉTODO DO REFLUXO EM ÁGUA*

O método proposto originalmente por Berger e Troug (1939) foi o escolhido como referencia para a extração de boro em amostras de solo. Esse método consistiu em ferver durante cinco minutos, sob refluxo, a seguinte mistura: 20 cm<sup>3</sup> de solo, 40 mL de água e 0,5 cm<sup>3</sup> de carvão ativo (grau G60). Após um período de vinte minutos de resfriamento, foi adicionado 1 mL de uma solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de cloreto de cálcio para provocar a floculação e depois de cinco minutos, a suspensão foi filtrada em papel de filtro para filtragem lenta (faixa azul). A solução resultante foi analisada por ICP-AES ou pelo método espectrofotométrico da azometina-H.

#### *MÉTODO DO CLORETO DE BÁRIO E MICROONDAS*

Esse é o procedimento adotado atualmente na rotina do IAC e nos laboratórios do Estado de São Paulo (Abreu et al., 1994a).

Foram colocados em saquinhos de polipropileno 10 cm<sup>3</sup> de amostras de solo e adicionados 20 mL de solução de cloreto de bário 1,25 g L<sup>-1</sup> e 0,5 cm<sup>3</sup> de carvão ativo. Os saquinhos foram agitados suavemente para umedecer toda a amostra, vedados em uma seladora e feito um pequeno furo lateral, para alívio de pressão durante o aquecimento. Os saquinhos foram pendurados em uma prateleira própria para microondas, com prendedores de plástico tipo "clips", e colocados para aquecer no forno de microondas doméstico por 4 minutos na potência máxima de 700 W e 5 minutos na potência média máxima de 490 W. Esses tempos foram calculados para se trabalhar com 14 saquinhos de amostras.

A suspensão foi resfriada por 30 minutos e filtrada em papel de filtro faixa azul. Para os estudos foi também utilizada água em substituição à solução de cloreto de bário e a adição de cloreto de bário  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  no extrato final. As determinações de boro no extrato foram efetuadas por ICP-AES e pelo método espectrofotométrico usando azometina-H.

### **Métodos de Determinação de Boro**

#### *DETERMINAÇÃO POR ICP-AES*

As condições experimentais para a determinação por emissão atômica estão citadas nos quadros IV.1 e IV.2, usando o nebulizador do tipo "V-groove".

#### *DETERMINAÇÃO POR ESPECTROFOTOMETRIA*

Para essas determinações foram transferidas alíquotas de 4,0 mL do extrato ou das soluções-padrão para tubos de ensaio, 1,0 mL da solução tampão (250 g de acetato de amônio e 15 g de EDTA e 125 mL de ácido acético glacial) e 1,0 mL da solução corante (0,9 g de azometina-H em 100 mL de ácido ascórbico 2%). Os tubos foram agitados e deixados em repouso no escuro por 30 minutos. As medidas espectrofotométricas foram feitas em 420 nm.

### **Análise Estatística**

Foram feitas análises por regressão linear entre os treze pares de dados, sendo que cada dado representa a média de três repetições. Para comparação entre os métodos foram utilizados o coeficiente angular e o coeficiente linear da regressão, que foram submetidos ao teste "t". As fórmulas e os cálculos feitos estão descritos no Apêndice II.

#### IV.4. ANÁLISE DE PLANTAS

As amostras de plantas utilizadas neste estudo foram: um padrão certificado NIES - "pepperbush" (Okamoto, 1980) e quatro amostras, 883, 875, 767 e 996, fornecidas pelo "International Plant-Analytical Exchange Programme - IPE" da Universidade de Wageningen (Holanda) (Houba e Uittenbogaard, 1994 e Houba et al., 1994a). O tipo de material vegetal para cada amostra está descrito no quadro IV.3. Das amostras do programa IPE, a 883 e a 875 apresentam valores certificados para alguns elementos pelo "Comitee Inter-instituts - CII" e os resultados foram compilados por Novozamsky et al. (1993a). As amostras adquiridas estavam moídas e passadas em peneira com 0,2 mm de abertura. Previamente às análises, as amostras foram secas a 60°C em estufa com ventilação forçada.

**Quadro IV.3:** Descrição do tipo de material vegetal das amostras de plantas utilizadas neste estudo, de acordo com Houba e Uittenbogaard (1994).

Amostra	Material vegetal
883	Cravo / <i>Dianthus</i>
875	Repolho branco / <i>Brassica oleracea L. var. capitata L.</i>
767	Amarílis (parte aérea) / <i>Hippeastrum</i>
996	Chicória / <i>Cycorium intibus L. var. foliosum bish.</i>

A dissolução das amostras de plantas foi conduzida empregando-se os métodos de via seca tradicional e via úmida com a mistura de ácidos nítrico e perclórico, usados rotineiramente no laboratório de análises do IAC (Bataglia et al., 1983) e pelo método da via úmida com aquecimento em forno de microondas, baseado em Miller (1993). As técnicas são descritas a seguir.

## **Métodos de Digestão**

### *VIA SECA*

Foram pesados 1000 mg (com precisão de 1 mg) do material vegetal seco e moído em béquer (Pyrex) de 20 mL e incinerado por 3 horas a 500°C. Após resfriar, foram adicionados 5,0 mL de solução de HCl 6 mol L<sup>-1</sup> (certificando-se que toda a cinza tenha sido umedecida), evaporando a solução em chapa elétrica. O resíduo foi então dissolvido em solução de HCl 2 mol L<sup>-1</sup> e transferido para balão volumétrico de 50 mL, lavando o béquer com diversas porções de água. Depois de frio, o volume final foi completado com água e a solução filtrada em papel de filtro (faixa azul), lavado em ácido.

### *VIA ÚMIDA COM ÁCIDOS NÍTRICO-PERCLÓRICO*

Este método foi baseado no procedimento utilizado no laboratório de rotina do IAC (Bataglia et al., 1983). Foram pesados 500 mg de material vegetal com precisão de 1 mg, em tubos próprios para digestão com capacidade de 80 mL. Foram adicionados 5,0 mL de ácido nítrico concentrado (65%) deixando em repouso por uma noite. No dia seguinte, as amostras foram digeridas por cerca de duas horas a 180°C ou até que o extrato estivesse claro. As amostras foram ligeiramente resfriadas, e logo após foi adicionado 1,3 mL de ácido perclórico concentrado (70%). Em seguida, foram submetidas ao aquecimento a 210°C por mais 30 minutos ou até o aparecimento de fumos brancos. Os tubos foram resfriados até a temperatura ambiente e o volume completado a 25 mL com água.

### *VIA ÚMIDA EM FORNO DE MICROONDAS*

Foram pesadas amostras de 500 mg (com precisão de 1 mg) de material vegetal e adicionadas aos frascos de Teflon PFA do forno de microondas CEM. Com auxílio de um dispensador automático (Eppendorf), em cada frasco, foram adicionados 1,0 mL de ácido nítrico (suprapur, Merck) e 2,0 mL de peróxido de hidrogênio (30%), deixando um tempo de 30 minutos para a pré-digestão. Logo

após, as válvulas de segurança foram fechadas e os frascos levados ao microondas com a programação descrita no quadro IV.4.

**Quadro IV.4:** Programação utilizada no forno de microondas CEM para método de digestão de plantas por via úmida em microondas.

Etapa	1	2
Potência (W)	296	565
Pressão (kPa)	415	553
Tempo (min)	10:00	15:00
TAP* (min)	4:00	8:00

\* TAP = "time at pressure", tempo que deve ficar sob a pressão estipulada

O sistema de frascos foi resfriado em banho de gelo por cerca de uma hora e a pressão aliviada, rotacionando a válvula em meia volta. Depois de abertos os frascos, os extratos foram transferidos para tubos de ensaio calibrados para 25 mL e levados ao amostrador automático do ICP-AES. A diluição para 25 mL foi feita para que todos os métodos tivessem a mesma razão massa/volume, mas diluições para 10 mL também podem ser feitas para melhorar a sensibilidade do método para os elementos em menor concentração, sem que se afete os presentes em maiores concentrações.

### **Determinação dos Elementos nos Extratos de Planta**

As soluções resultantes dos diferentes processos de digestão foram analisadas diretamente, sem diluição, no ICP-AES, nas condições descritas nos quadros IV.1 e IV.2, para os seguintes elementos: S, P, Ca, Mg, Zn, Cu, Mn, Fe, Na, B, Mo, Pb, Cd, Ni e Cr.

### **Análise Estatística**

Para comparação entre o valor certificado e os resultados obtidos pelos métodos estudados foi utilizado o intervalo de confiança, cujos limites foram calculados da seguinte forma:

$$\text{limite de confiança} = \bar{x} \pm \frac{t s}{\sqrt{N}}$$

onde  $\bar{x}$  é a média dos valores obtidos por um método, “t” é o valor de “Student” para o grau de liberdade, N é o número de determinações e s é o desvio padrão das determinações (Christian, 1994).

Outros detalhes estão apresentados no Apêndice II.

## **IV.5. ANÁLISE DE RESÍDUOS**

Como não foi possível obter um padrão certificado para os resíduos, foi empregada uma amostra certificada de sedimento, “Pond’s sediment #2” proveniente do NIES (1981) “National Institute for Environmental Studies” da Agência Ambiental do Japão. A amostra de lodo digerido anaerobicamente, foi coletada na Planta de Tratamento de Efluentes de Barueri - SP. Os compostos de lixo urbano foram amostrados em Mococa e Adamantina. Os esterco de suínos e de vacas foram obtidos em fazendas da região de Campinas, SP. Todos os resíduos foram secos a 65°C, moídos e passados por peneira com abertura de 0,5 mm. O manuseio das amostras de lodo e composto de lixo foram feitos com luvas e máscaras para evitar possíveis contaminações por patógenos.

### **Métodos de Digestão**

#### **MÉTODO DA EPA - SW - 846 - 3051**

Este é o procedimento oficial adotado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (USEPA - “United States Environmental Protection Agency”) que emprega aquecimento por microondas para análise de solos, lodos e resíduos.

Foram pesados 500 mg (com precisão de 1 mg) da amostra do resíduo seco e moído e transferidos para os frascos de digestão. Foram adicionados 10 mL de ácido nítrico concentrado (65%). Antes de fechar, os frascos foram deixados em repouso por cerca de 15 minutos. Entretanto, se ainda houvesse reação violenta, aguardava-se até que as condições reacionais se amenizassem. Para um forno de microondas (CEM MDS-2000) com potência máxima de 600 W, utilizado neste estudo, foram colocados apenas seis frascos para digestão simultânea. Para fornos com potência de 950 W pode-se trabalhar com até doze frascos de digestão, simultaneamente. A programação do forno foi feita em uma etapa, conforme o quadro IV.5.

**Quadro IV.5:** Programação do forno de microondas CEM para a digestão de resíduos pelo método EPA-3051.

Potência:	600 W
Pressão:	415 kPa (60 psi)
TAP:	10:00 min
Tempo:	5:30 min

Após o término da programação, os frascos foram resfriados até alcançar pressão em torno de 69 kPa (10 psi) e foram abertos. A abertura deve ser cuidadosa e realizada em capela.

Os frascos e tampas foram lavados com água e a solução transferida para balões volumétricos de 50 mL, diluídos com água e filtrados antes da leitura no ICP-AES.

#### *MÉTODO DA ÁGUA RÉGIA COM MICROONDAS*

Esse procedimento foi baseado no trabalho de Nieuwenhuize e Poley-Voz (1989).

Foram pesadas amostras de 500 mg (com precisão de 1 mg) e colocadas nos frascos de digestão de Teflon PFA do forno de microondas CEM com 16 mL

de água régia (12 mL de ácido clorídrico concentrado (32%) e 4,0 mL de ácido nítrico concentrado (65%)). A mistura foi deixada em repouso por cerca de 15 minutos, os frascos foram fechados e levados ao forno de microondas. O programa do forno foi feito em três etapas, conforme a descrição no quadro IV.6.

**Quadro IV.6:** Etapas de programação do forno de microondas CEM para a digestão de resíduos utilizado para o método da água-régia.

Etapa	1	2	3
Potência (W)	180	480	600
Pressão (kPa)	276	554	692
Tempo (min)	1:00	4:00	60:00
TAP (min)	1:00	4:00	60:00

O digerido final foi tratado da mesma forma feita no método 3051, descrito anteriormente.

#### ÁCIDO NÍTRICO-PERCLÓRICO

Foram pesadas amostras de 500 mg (com precisão de 1 mg) do resíduo seco e moído e transferidas para os tubos de digestão de vidro. Foram adicionados 5,0 mL de ácido nítrico concentrado (65%), homogeneizados e deixados em repouso por uma noite. Os tubos foram aquecidos no bloco digestor à temperatura de 160°C. Quando a solução ficou clara, os tubos foram retirados do bloco digestor, esfriados e então acrescentou-se 1,0 mL de ácido perclórico (70%). As amostras foram novamente colocadas no bloco digestor e a temperatura foi elevada gradativamente a 210°C. Desligou-se o aquecimento quando a solução ficou completamente clara e começou a desprender fumos brancos. Esperou-se esfriar e completou-se o volume para 50 mL com água.

---

### **Determinação dos Elementos nos Extratos de Resíduos**

As soluções resultantes dos três métodos de digestão foram analisadas diretamente no ICP-AES, utilizando o nebulizador tipo "V-groove", nas condições descritas nos quadros IV.1 e IV.2, para os seguintes elementos: Zn, Cu, Mn, Fe, Pb, Cd, Ni e Cr.

### **Análise Estatística**

Para comparação entre os dados fornecidos pelo material certificado e os resultados obtidos pelos diferentes métodos, também foi utilizado o teste t de "Student". Como os dados obtidos entre os diferentes métodos estudados foram bastante diferentes, utilizou-se o teste de Tukey, que permite dizer se há ou não diferenças entre os resultados. Mais informações sobre este método estão descritas no Apêndice II.

---

## **V. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

### **V.1. O AJUSTE DOS PARÂMETROS DO ICP-AES**

Os equipamentos comerciais que empregam a técnica da espectrometria de emissão por plasma de argônio, apresentam a maioria dos parâmetros operacionais fixados durante a fabricação. A resolução da grade do espectrômetro, as dimensões da tocha, e a frequência do gerador, em geral, não podem ser controladas pelo operador. No entanto, alguns fatores podem ser controlados para melhorar o desempenho do equipamento em análises de determinados elementos e matrizes.

No equipamento utilizado neste trabalho, um ICP-AES simultâneo com capacidade de detecção de pelo menos 31 elementos, marca Jobin Yvon 50P, os parâmetros possíveis de serem controlados são: a potência do gerador, as vazões dos gases, a altura de observação e os tipos de nebulizadores.

A potência pode ser variada de 200 a 1000 W e durante todo o desenvolvimento desta tese optou-se por trabalhar com a potência máxima. A potência do gerador deve ser ajustada em função da matriz, que afeta a temperatura do plasma. O comportamento de cada elemento e mesmo de cada linha de emissão é diferente, e quanto menor a potência, maior é a razão entre o sinal emitido pelo elemento e o sinal de fundo. Preferencialmente, deve-se trabalhar com a menor potência, no entanto há muito mais problemas de interferências. No presente trabalho a opção por 1000 W pareceu ser a mais

adequada para as matrizes analisadas, que possuem altas concentrações de elementos como sódio e alumínio que interferem com outros elementos de menor concentração e com aqueles que apresentam a razão entre o sinal do analito e o sinal de fundo menos favorável.

As vazões de argônio para a formação e resfriamento do plasma e para o transporte da amostra foram ajustadas de acordo com as recomendações do fabricante, pois nessas condições obtiveram-se as melhores respostas.

Experimentalmente a altura de observação está localizada tipicamente a 15 mm acima da bobina de rádio frequência (Mermet e Poussel, 1995). Com uma solução de Ítrio a  $1000 \text{ g L}^{-1}$  em meio aquoso pode-se observar cores distintas entre a excitação iônica (cor azul) e do primeiro nível de excitação atômica (cor vermelha). O ponto ideal para observação deve ser centrado na parte azul.

Normalmente, os equipamentos de ICP-AES utilizam o nebulizador pneumático concêntrico tipo "Meinhard". Os primeiros testes foram feitos com esse nebulizador utilizando amostras de plantas, digeridas pelo procedimento de rotina do Laboratório de Análise de Solos e Plantas do IAC, que é o método por via seca. Entupimentos freqüentes foram observados e o uso de ácidos, inclusive na lavagem entre amostras consecutivas, não resolveu o problema, provavelmente porque as partículas formadas no digerido, após filtração, são agregados de materiais silicosos existentes nas amostras de planta. A utilização do nebulizador tipo "Babington" (Fry e Denton, 1977), modelo "V-groove", foi a alternativa encontrada para o problema. Esse tipo de nebulizador permite que se trabalhe com soluções contendo alto teor salino e partículas em suspensão. Os resultados para as determinações dos elementos usando os diferentes nebulizadores apresentados no quadro V.1, foram obtidos para duas amostras de planta, aveia e trigo, normalmente empregadas como controle interno, utilizando o método da via seca. As leituras foram feitas em triplicata para o mesmo digerido, sob as condições padrões apresentadas no quadro IV.1, variando apenas as condições estabelecidas para os nebulizadores, com os comprimentos de ondas para cada elemento citados no quadro IV.2.

De acordo com o quadro V.1, os valores obtidos com o nebulizador concêntrico "Meinhard" apresentam, de um modo geral, menores valores para os

desvios padrão, resultando em melhor repetibilidade. No entanto, o nebulizador do tipo “V-groove” se mostrou uma boa opção, não apresentando problemas de entupimentos e com repetibilidade adequada para as análises propostas neste estudo.

**Quadro V.1:** Resultados para alguns elementos em duas amostras de plantas digeridas pelo método da via seca com determinações feitas por ICP-AES comparando-se os nebulizadores “V-groove” e “Meinhard”. Todos os valores correspondem à média  $\pm$  desvio padrão de três repetições.

Elemento	Via Seca	
	“V-groove”	“Meinhard”
<b>Amostra : Trigo</b>		
P (g/kg)	2,0 $\pm$ 0,1	2,0 $\pm$ 0,1
Ca (g/kg)	2,3 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,1
Mg (g/kg)	1,7 $\pm$ 0,5	1,8 $\pm$ 0,1
Fe (mg/kg)	350 $\pm$ 20	331 $\pm$ 15
Mn (mg/kg)	105 $\pm$ 3	101,2 $\pm$ 0,2
Zn (mg/kg)	33 $\pm$ 1	30,4 $\pm$ 0,4
Cu (mg/kg)	6,7 $\pm$ 0,5	7,50 $\pm$ 0,01
Al (mg/kg)	334 $\pm$ 18	337 $\pm$ 5
<b>Amostra: Aveia</b>		
P (g/kg)	2,27 $\pm$ 0,01	2,25 $\pm$ 0,01
Ca (g/kg)	4,89 $\pm$ 0,04	5,30 $\pm$ 0,01
Mg (g/kg)	2,58 $\pm$ 0,01	2,76 $\pm$ 0,01
Fe (mg/kg)	104 $\pm$ 2	99 $\pm$ 1
Mn (mg/kg)	248 $\pm$ 1	250 $\pm$ 7
Zn (mg/kg)	37 $\pm$ 2	32 $\pm$ 1
Cu (mg/kg)	8 $\pm$ 1	9 $\pm$ 1
Al (mg/kg)	332 $\pm$ 2	345 $\pm$ 1

A partir desses dados optou-se pelo emprego do nebulizador do tipo "Babington" ("V-groove"), nas determinações de rotina do Laboratório de Análise de Solos e Plantas do IAC, com a técnica de ICP-AES. Tal procedimento tem permitido a análise diária de até duzentas amostras de solos e plantas, para a determinação de diferentes elementos, sem qualquer problema de entupimento.

O uso do nebulizador tipo "cross-flow" é outra opção, mas esse acessório é também susceptível a entupimentos.

Os limites de detecção para todos os métodos estudados nesta pesquisa foram calculados usando a equação III.6 (ver ítem III.3):

$$c_L = k \, 0,01 \, \text{RSDB} \, \text{BEC},$$

O valor de RSDB (desvio padrão relativo do fundo) foi calculado a partir de 10 determinações do branco, o valor de k escolhido foi de 3 e o valor de BEC foi fornecido diretamente pelo equipamento de ICP-AES, utilizado neste trabalho, para cada elemento em função da curva de calibração empregada em cada método de análise.

Os valores para os limites de detecção calculados para cada um dos métodos de extração de boro em solos foram de 0,01 mg dm<sup>-3</sup> de boro em solo, nas condições descritas no quadro IV.1 e IV.2 para o nebulizador tipo "V-groove".

Para os métodos de análise em plantas e resíduos, os valores calculados do limites de detecção relativo a cada elemento e cada procedimento, encontram-se descritos no quadro V.2.

## **V.2. A EXTRAÇÃO E A DETERMINAÇÃO DE BORO EM SOLOS**

Os estudos envolvendo a extração de boro em solos foram feitos comparando o método do refluxo em água (método de referência) com os métodos que empregam aquecimento por microondas usando água ou solução de cloreto de bário 1,25 g L<sup>-1</sup>. As determinações de boro foram efetuadas em cada um dos extratos obtidos utilizando espectrofotometria no visível com

**Quadro V.2:** Valores dos limites de detecção para os procedimentos avaliados nas análises de plantas e resíduos. Todas as determinações foram feitas no ICP-AES JY-50P, com o nebulizador "V-groove", empregando as condições descritas nos quadros IV.1 e IV.2.

VALORES DE LIMITE DE DETECÇÃO <sup>(1)</sup>						
ELEMENTO <sup>(2)</sup>	PLANTA			RESÍDUO		
	Nít-Perclór.	Via seca	Microondas	Nít-Perclór.	EPA 3051	Água-régia
Al (mg/kg)	0,5	0,2	0,2			
B (mg/kg)	2	2,5	2,5			
Cd (µg/kg)	40	30	30	30	30	30
Ca (g/kg)	0,01	0,01	0,01			
Pb (µg/kg)	50	36	40	40	40	40
Cu (mg/kg)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Cr (µg/kg)	30	30	30	30	30	30
S (g/kg)	0,2	0,2	0,2			
Fe (mg/kg)	0,1	0,1	0,1	3	4	3
P (g/kg)	0,01	0,01	0,01			
Mg (g/kg)	0,02	0,02	0,02			
Mn (mg/kg)	0,3	0,2	0,2	4	4	3
Mo (µg/kg)	60	60	60			
Ni (µg/kg)	30	30	30	30	30	30
K (g/kg)	0,01	0,01	0,01			
Na (g/kg)	0,03	0,02	0,02			
Zn (mg/kg)	1,0	1,0	1,0	2,0	2,0	2,0

<sup>(1)</sup> Os limites de detecção foram calculados a partir de 10 determinações de cada elemento da amostra em branco

<sup>(2)</sup> As escalas de concentração para cada elemento estão discriminadas entre parênteses.

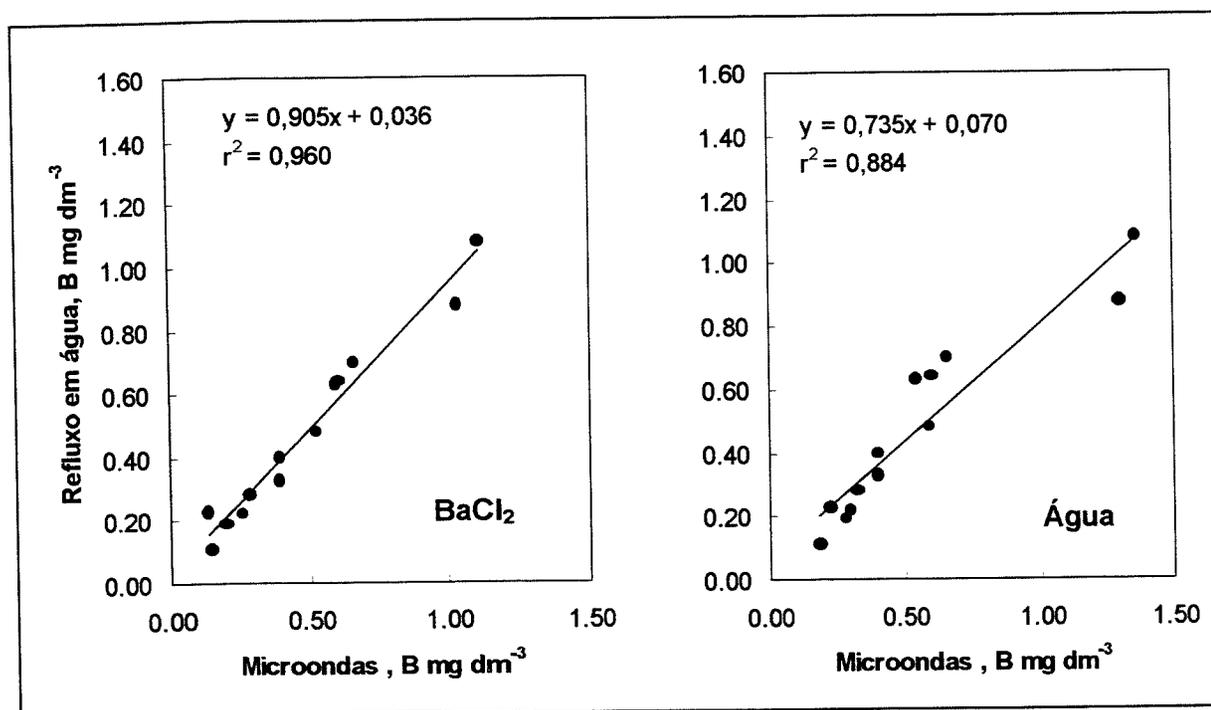
azometina-H (método de referência) e espectrometria de emissão atômica por plasma (ICP-AES).

Como anteriormente descrito, o método do refluxo em água é considerado o melhor procedimento para a extração do boro dos solos. Assim, esse método de extração foi escolhido e utilizado como referência. A determinação por espectrofotometria com o reagente azometina-H foi utilizada como referência por ser um dos procedimentos mais empregados em análises de rotina para a determinação de boro.

No método original proposto para extração de boro em água quente sob refluxo (Berger e Troug, 1939), adiciona-se 1 mL de solução de cloreto de cálcio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  no extrato final a frio, para flocular partículas coloidais em suspensão e permitir a obtenção de extratos límpidos. Bataglia e Raij (1990) utilizaram uma solução de cloreto de cálcio  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  a quente em substituição a água quente e os resultados observados foram equivalentes. Entretanto, os testes iniciais mostraram que resultados inconsistentes eram obtidos quando se empregava solução de cloreto de cálcio em saquinhos plásticos e aquecimento por microondas. Esse fato levou à substituição do  $\text{CaCl}_2$  por uma solução de cloreto de bário, dada à similaridade química dos elementos cálcio e bário. Os resultados observados usando cloreto de bário foram coerentes e mais precisos. Esse fato provavelmente também foi observado por Mahler et al. (1984), que ao substituir as vidrarias por sacos plásticos em banho-maria, optou por utilizar a solução de cloreto de bário como extrator.

Os resultados obtidos pelos dois sistemas de aquecimento, refluxo e microondas com água ou  $\text{BaCl}_2$ , foram altamente correlacionados, sendo  $r^2 = 0,884$  e  $0,996$ , respectivamente, indicando que o forno de microondas pode ser usado como fonte de aquecimento na extração de boro em solos, conforme mostra a figura V.1.

Para as equações de regressão dadas na figura V.1, os valores dos coeficientes lineares e angulares não foram estatisticamente diferentes de zero (0) e de um (1), respectivamente, (cálculos feitos de acordo com o Apêndice II), indicando que a extração com microondas, usando água ou solução de cloreto de bário, não difere do método de referência, refluxo em água.



**Figura V.1:** Correlação entre o método de refluxo em água (referência) e os métodos de extração com aquecimento em microondas, usando água ou solução de BaCl<sub>2</sub>. Todas as determinações de boro em todos os extratos foram feitas por ICP-AES.

Para o aquecimento em microondas foram testadas diversas alternativas de potência e tempo. A escolha do procedimento anteriormente descrito, foi a que melhor se correlacionou com o método de referência. O tempo de quatro minutos na potência alta foi necessário para a solução iniciar a ebulição e na segunda etapa a potência foi menor para que não houvesse perdas devido a uma forte ebulição. O maior tempo total utilizado com o forno de microondas pode ser também justificado pelo fato de a suspensão nos saquinhos não sofrer uma agitação tão forte quanto no sistema de aquecimento por convecção.

A determinação por ICP-AES foi eficiente na quantificação de boro, independente do extrato utilizado, resultando em altas correlações entre ICP-AES e azometina-H (Figura V.2). As correlações observadas foram  $r^2 = 0,967$ ,  $0,980$  e  $0,980$ , correspondentes às técnicas de refluxo em água, BaCl<sub>2</sub> com aquecimento por microondas e água com aquecimento por microondas, respectivamente. Os coeficientes angulares e lineares das três equações indicam que o conteúdo de boro extraído por qualquer uma das alternativas não difere significativamente entre si. Essa informação confirma os resultados observados por Gestring e

Soltanpour (1981) sobre a viabilidade de utilizar a técnica de ICP-AES para a determinação de boro em solos.

Informações na literatura sobre a determinação de boro em extratos de solo mostram a tendência de a técnica de ICP-AES apresentar valores menores que os obtidos pelos espectrofotométricos da azometina-H e da curcumina (Gestring e Soltanpour, 1981 e McGeehan et al., 1989). Provavelmente, isto ocorre porque nem toda a luz absorvida na medida espectrofotométrica seja proveniente da cor amarela do complexo, formado entre o boro e a azometina-H. Interferentes como a matéria orgânica, podem intensificar a cor amarela, estimando portanto, valores maiores de boro (Wolf, 1971 e Gupta, 1979). Por outro lado, a presença da cor não interfere nas determinações via ICP-AES. Essa tendência no entanto, não foi verificada para a maioria dos extratos analisados neste estudo, pois foi adicionado carvão ativo durante o processamento das amostras. A adição de carvão ativo pode prevenir ou reduzir a interferência da cor, pela remoção da matéria orgânica da solução. Paralelamente foram também conduzidos extratos contendo ou não carvão ativo e subsequente determinação por ICP-AES para avaliar se havia modificações nos teores de boro, e os resultados observados foram semelhantes entre si.

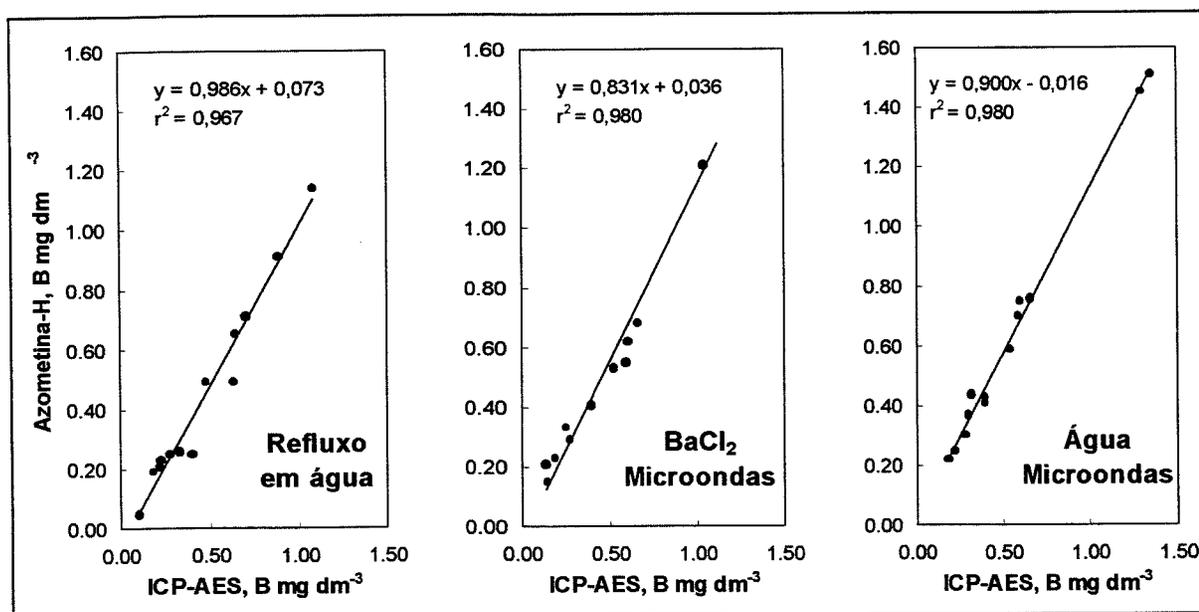


Figura V.2: Correlações entre o método de determinação de boro por espectrofotometria (método de referência) e por ICP-AES, utilizando os procedimentos de extração por refluxo em água (referência) e por microondas com água e com solução de BaCl<sub>2</sub>.

Os valores de boro determinados em água ou solução de  $\text{BaCl}_2$  usando forno de microondas e medidas por ICP-AES foram comparados com os resultados obtidos pelo método de referência (refluxo em água e determinação com azometina-H) e são apresentados na figura V.3. A extração feita com solução de cloreto de bário  $1,25 \text{ g L}^{-1}$  mostrou boa correlação,  $r^2=0,920$ , e os coeficientes angular e linear não diferiram estatisticamente de um e zero, respectivamente. Por outro lado, a extração com água em microondas apresentou menor correlação,  $r^2=0,895$ , e o coeficiente angular ( $m=0,665$ ) foi estatisticamente diferente de um, de acordo com o teste "t", indicando que teores maiores de boro são extraídos usando esse método. A utilização da solução de cloreto de bário como extrator de solos para boro apresenta melhores resultados que a água e pode substituir o método de referência do refluxo em água, com vantagens. A técnica de ICP-AES mostrou-se adequada a quantificação de boro em extratos de solo.

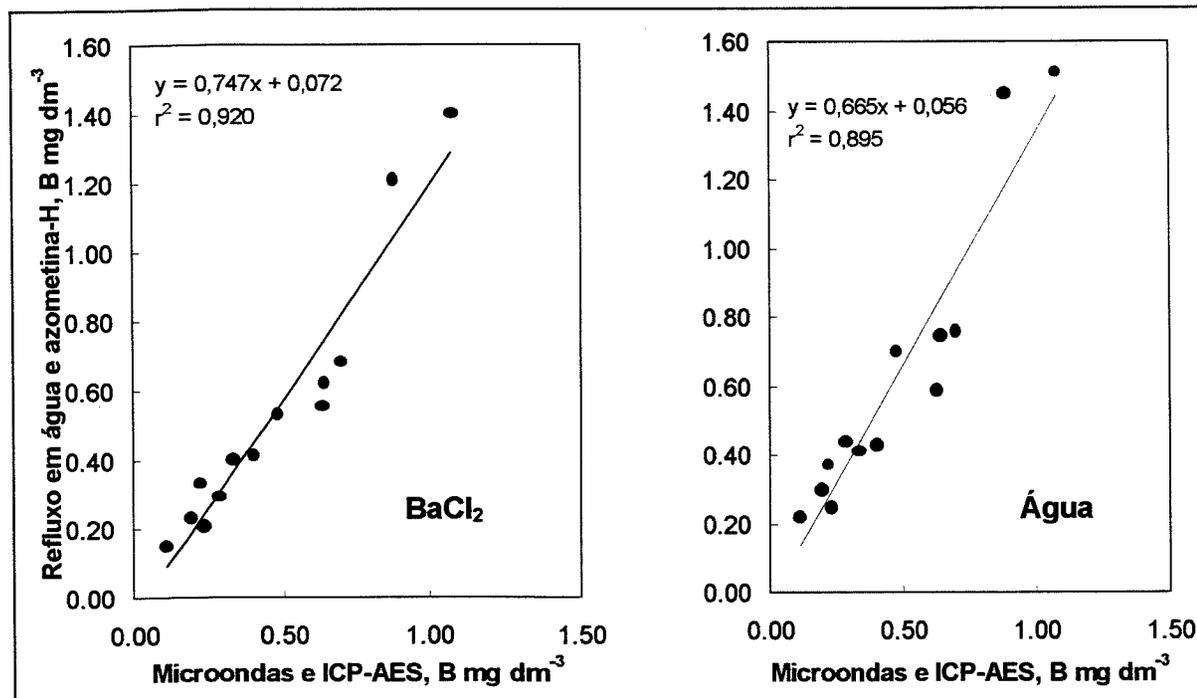


Figura V.3: Correlação entre o método de referência, refluxo em água e determinação por espectrofotometria e os métodos de extração com aquecimento em microondas, usando água ou solução de  $\text{BaCl}_2$  e determinação de boro por ICP-AES.

Devido a heterogeneidade dos solos, a precisão de um método de extração se torna uma característica relevante, principalmente para procedimentos de rotina. De uma maneira geral, o método de extração com cloreto de bário e microondas apresentou desvios padrão bem inferiores aos observados pelo método do refluxo em água (Quadro V.3). As médias dos coeficientes de variação foram de 19,3% e 19,2% para o procedimento de referência com determinação de boro com azometina-H e ICP-AES, respectivamente.

**Quadro V.3:** Quantidade de boro extraído do solo pelos procedimentos: refluxo em água, solução de cloreto de bário em microondas e água em microondas. Valores médios de três replicatas.

Solo	Refluxo em água		Água em microondas		BaCl <sub>2</sub> em microondas	
	azometina-H	ICP-AES	azometina-H	ICP-AES	azometina-H	ICP-AES
	mg dm <sup>-3</sup> de solo					
1	0,23 ± 0,06	0,23 ± 0,06	0,22 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,21 ± 0,01
2	0,63 ± 0,05	0,49 ± 0,02	0,54 ± 0,04	0,59 ± 0,03	0,59 ± 0,06	0,55 ± 0,01
3	0,40 ± 0,10	0,25 ± 0,06	0,40 ± 0,07	0,43 ± 0,03	0,39 ± 0,03	0,41 ± 0,01
4	0,28 ± 0,07	0,25 ± 0,05	0,32 ± 0,02	0,44 ± 0,01	0,27 ± 0,03	0,29 ± 0,01
5	0,11 ± 0,06	0,05 ± 0,04	0,18 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,15 ± 0,01
6	0,33 ± 0,11	0,26 ± 0,04	0,40 ± 0,03	0,41 ± 0,01	0,39 ± 0,04	0,40 ± 0,03
7	0,64 ± 0,08	0,65 ± 0,04	0,60 ± 0,06	0,75 ± 0,04	0,60 ± 0,02	0,62 ± 0,02
8	0,48 ± 0,03	0,49 ± 0,06	0,59 ± 0,04	0,70 ± 0,03	0,52 ± 0,01	0,53 ± 0,01
9	0,70 ± 0,03	0,71 ± 0,07	0,66 ± 0,06	0,76 ± 0,03	0,66 ± 0,08	0,68 ± 0,04
10	0,22 ± 0,05	0,21 ± 0,02	0,30 ± 0,04	0,37 ± 0,04	0,25 ± 0,05	0,33 ± 0,03
11	0,19 ± 0,03	0,19 ± 0,06	0,28 ± 0,06	0,30 ± 0,04	0,19 ± 0,01	0,23 ± 0,02
12	1,08 ± 0,09	1,14 ± 0,08	1,36 ± 0,06	1,51 ± 0,05	1,12 ± 0,05	1,40 ± 0,04
13	0,88 ± 0,08	0,91 ± 0,03	1,30 ± 0,10	1,45 ± 0,06	1,04 ± 0,10	1,21 ± 0,04
X	0,47	0,45	0,55	0,63	0,48	0,54
CV%	19,3	19,2	9,3	5,7	9,7	4,7

A extração em água e em solução de cloreto de bário empregando forno de microondas apresentaram valores das médias dos coeficientes de correlação

muito próximos, sendo 9,3% e 9,7% para a determinação por espectrofotometria com a azometina-H, e de 5,7% e 4,7% para as determinações por ICP-AES. Esses dados indicam considerável ganho na precisão com o uso do aquecimento por microondas e um aumento ainda maior para a determinação do boro com ICP-AES.

A menor precisão observada para o método do refluxo em água pode ser atribuída à dificuldade na identificação exata do início da fervura. Normalmente, a identificação é feita visualmente, levando em consideração o movimento das bolhas de ar na suspensão como o ponto inicial da fervura. Sabendo-se que a extração do boro pode ser muito afetada pelo tempo de fervura (Odom, 1980), esse procedimento torna-se muito sujeito a erros. A extração utilizando forno de microondas permite um melhor controle das condições de aquecimento, com menores chances de erros e conseqüentemente maior reprodutibilidade.

Alguns cuidados com o uso de aquecimento por microondas nesse procedimento devem ser considerados. Pelo fato de a radiação absorvida estar diretamente relacionada à massa da solução, é importante que o número de amostras dentro do microondas seja sempre o mesmo, isto é 14 saquinhos com 10 cm<sup>3</sup> de solo e 20 cm<sup>3</sup> de solução.

A velocidade de processamento das amostras com boa precisão é o principal fator para a implantação e aceitação de um novo procedimento de análise em laboratórios de rotina. A extração de boro com solução de cloreto de bário usando microonda como fonte de aquecimento, é um procedimento rápido com boa sensibilidade e reprodutibilidade, sendo portanto recomendável para fins de rotina. A técnica de ICP-AES se mostrou adequada para a determinação do elemento boro em extratos de solo, podendo também ser empregada em análises de rotina, tornando esse procedimento rápido.

Atualmente, existem alguns Programas de Controle de Qualidade que enviam periodicamente amostras desconhecidas e cada laboratório participante as analisam para os elementos de interesse, de acordo com os procedimentos preestabelecidos. Os resultados de todos os laboratórios são analisados estatisticamente e cada participante pode comparar seus resultados e avaliar se há ou não problemas com seus procedimentos. Com base nos resultados obtidos

durante o ano, o laboratório ganha um determinado conceito e somente os laboratórios com conceitos A e B recebem um selo de qualidade. No Estado de São Paulo existe o Programa de Controle de Qualidade do Sistema IAC de Análise de Solos (Quaggio et al., 1994), do qual participam cerca de 70 laboratórios de análise de solos particulares e vinculados a órgãos governamentais. O procedimento de extração de boro com solução de cloreto de bário com aquecimento por microonda foi adotado como método oficial para o Estado de São Paulo a partir de 1994 (Abreu et al., 1994a). O protocolo analítico desse procedimento se encontra descrito no Apêndice III.

### **V.3. ANÁLISE DE PLANTAS**

As digestões de amostras de plantas foram feitas pelos métodos da via seca, da via úmida, com a mistura dos ácidos nítrico e perclórico, e pelo método da via úmida em sistema fechado com aquecimento por microondas. Todas as determinações foram feitas pela técnica da Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma de Argônio (ICP-AES).

A comparação entre esses três procedimentos de digestão foi feita usando um material de referência certificado (Okamoto, 1981), e quatro amostras provenientes do Programa Internacional de Controle de Amostras de Plantas da Universidade de Wageningen na Holanda ("IPE-International Plant-analytical Exchange") (Houba e Uittenbogaard, 1994 e Houba et al., 1994a e 1994b), sendo que dentre essas, duas foram aprovadas como material certificado para alguns elementos pelo "Comitee Inter-Instituts -CII" (Novozamsky et al., 1993a).

Como um dos objetivos desse trabalho é a comparação de métodos, verificando suas vantagens e desvantagens, resolveu-se fixar uma proporção de 1:50, de massa de amostra por volume final da solução. Nessas condições o método da via seca tem a vantagem de utilizar uma massa maior (1000 mg), enquanto que para o método com a mistura dos ácidos nítrico e perclórico e o

método por microondas não é conveniente o uso de massas superiores a 500 mg (Kingston e Jassie, 1988).

Os quadros V.4 a V.8 apresentam os valores de concentração dos elementos obtidos feitos pelos três procedimentos de digestão testados, para as amostras de plantas estudadas. Todos os teores obtidos estão descritos considerando o intervalo de confiança, calculado a partir de seis repetições, para 95% de probabilidade. Aplicou-se o teste “t” de Student, usando os valores certificados (para os materiais certificados) ou os valores das medianas (para as amostras do IPE) como valores verdadeiros. Os resultados seguidos com um e dois asteriscos (\* e \*\*), indicam que não há diferença estatística significativa ao nível de 95 e de 90% de probabilidade, respectivamente. As amostras pertencentes ao programa IPE, foram tratadas de acordo com os critérios desse programa e os resultados que seriam rejeitados foram marcados com um “x”. O tratamento estatístico está descrito no Apêndice II.

Para facilitar a discussão dos dados, procurou-se analisar apenas os resultados que apresentaram valores de recuperação<sup>(1)</sup> inferiores a 95% e superiores a 105%. Valores entre 95% e 105% são considerados perfeitamente aceitáveis para os critérios de diagnose nutricional foliar.

Os resultados obtidos com o uso do método nítrico-perclórico apresentaram maior variabilidade para todas as amostras estudadas, com variações nos valores de recuperação entre 80 e 140%, para a maioria dos elementos (Quadros V.4 a V.8). Como esperado, os teores de potássio foram sistematicamente mais baixos para todas as amostras digeridas com a mistura de ácidos nítrico e perclórico, devido à possível precipitação do perclorato de potássio (Havlin e Soltanpour, 1980, Topper e Kotube-Amacher, 1990 e Zarcinas et al., 1987). Uma diluição maior pode evitar este problema, mas a determinação dos elementos com concentrações menores pode ficar prejudicada.

---

<sup>(1)</sup> Os valores de recuperação foram calculados em porcentagem utilizando o teor certificado ou de referência como 100%.

**Quadro V.4:** Comparação dos teores certificados dos elementos da amostra "pepperbush" do NIES (Okamoto, 1981), com os determinados pelos métodos de digestão em microondas, por via seca e por via úmida com ácidos nítrico-perclórico.

Amostra "Pepperbush"		Digestão em Microondas		Digestão por Via Seca		Digestão por Via Úmida	
Elemento (unidade)	Valor Certificado	Intervalo de confiança <sup>(1)</sup>	Rec(%)	Intervalo de confiança	Rec(%)	Intervalo de confiança	Rec(%)
Al (mg/kg)		348 ± 0,4		315 ± 2		311 ± 11	
B (mg/kg)		61 ± 2		88 ± 3		78 ± 2	
Ca (g/kg)	13,8 ± 0,7	13,6 ± 0,1*	99	14,0 ± 0,4	101	12 ± 1	87
Cd (mg/kg)	6,7 ± 0,5	6,5 ± 0,1	97	6,3 ± 0,1	94	5,8 ± 0,2	87
Cr (mg/kg)	1,3 <sup>(2)</sup>	1,30 ± 0,01**	100	1,1 ± 0,3**	85	0,7 ± 0,2	54
Cu (mg/kg)	12 ± 1	11,7 ± 0,1	98	11,0 ± 0,1	92	11 ± 2	92
Fe (mg/kg)	205 ± 17	200 ± 2	98	200 ± 1	98	189 ± 4	92
K (g/kg)	15,1 ± 0,6	15,0 ± 0,1**	99	14,9 ± 0,1	99	13,7 ± 0,5*	91
Mg (g/kg)	4,08 ± 0,020	4,08 ± 0,06**	100	3,96 ± 0,01**	98	3,3 ± 0,2	100
Mn (mg/kg)	2030 ± 170	2131 ± 20	105	1998 ± 40	98	1714 ± 132	80
Mo (mg/kg)		0,193 ± 0,001		0,13 ± 0,01		nd	
Na (mg/kg)	106 ± 10	116 ± 6*	109	618 ± 9	583	116 ± 10*	109
Ni (mg/kg)	8,7 ± 0,6	8,8 ± 0,1*	101	7,8 ± 0,2	90	7,7 ± 0,5	89
P (g/kg)	1,10 <sup>(2)</sup>	1,16 ± 0,01	105	1,10 ± 0,01**	100	0,93 ± 0,06	85
Pb (mg/kg)	5,5 ± 0,8	5,6 ± 0,5**	102	4,3 ± 0,1	78	5,5 ± 0,6**	100
S (g/kg)		2,51 ± 0,01		1,77 ± 0,01		2,49 ± 0,05	
Zn (mg/kg)	340 ± 20	348 ± 1	102	338 ± 1	99	347 ± 2	102

<sup>(1)</sup> Intervalo de confiança calculado com 95% de probabilidade para seis determinações (Apêndice II)

<sup>(2)</sup> Valor de referência

<sup>(3)</sup> Valores seguidos com dois asteriscos indicam que não há diferença significativa ao nível de 90% de probabilidade e um asterisco 95% (Apêndice II).

**Quadro V.5:** Comparação dos valores das medianas ou dos valores certificados (Novozamsky et al., 1993a) para os elementos da amostra do programa IPE-883, com os resultados obtidos pelos métodos de digestão em microondas, por via seca e por via úmida com ácidos nítrico-perclórico.

IPE 883	Valor de Referência			Digestão em Microondas			Digestão por Via Seca			Digestão por Via Úmida		
	Elemento	Unidade	Mediana	MAD <sup>(1)</sup>	Intervalo de confiança <sup>(2)</sup>	IPE <sup>(3)</sup>	Rec(%)	Intervalo de confiança	IPE	Rec(%)	Intervalo de confiança	IPE
Al	(mg/kg)	2420	114	2396 ± 20** <sup>(5)</sup>	99	2293 ± 79	95	2259 ± 123	95	2259 ± 123	93	93
B	(mg/kg)	73,0	4,0	73 ± 1**	100	82 ± 5	112	59 ± 5	x	59 ± 5	x	81
Ca	(g/kg)	19,1 ± 1,5 <sup>(4)</sup>		19,1 ± 0,2**	100	18,6 ± 0,5*	97	18,8 ± 0,4**		18,8 ± 0,4**		98
Cd	(µg/kg)	78,5	7,55	79 ± 6**	101	155 ± 30	x	110 ± 14		110 ± 14		140
Cr	(µg/kg)	4402	282	4252 ± 60	97	4365 ± 230**	99	4229 ± 290**		4229 ± 290**		96
Cu	(mg/kg)	6,00	0,54	5,7 ± 0,1	95	4,9 ± 0,2	82	5,7 ± 0,4**		5,7 ± 0,4**		95
Fe	(mg/kg)	1201	87	1169 ± 30*	97	1111 ± 52	93	1141 ± 66*		1141 ± 66*		95
K	(g/kg)	46,3 ± 1,8 <sup>(4)</sup>		47,9 ± 0,8	103	45 ± 3**	97	41 ± 1	x	41 ± 1	x	89
Mg	(g/kg)	3,31 ± 0,16 <sup>(4)</sup>		3,29 ± 0,08**	99	3,1 ± 0,1	94	3,10 ± 0,07		3,10 ± 0,07		94
Mn	(mg/kg)	131,0 ± 7,4 <sup>(4)</sup>		134 ± 3	102	125 ± 4	95	125 ± 4		125 ± 4		95
Mo	(µg/kg)	2050	92	2216 ± 106	108	2112 ± 109	103	2180 ± 213**		2180 ± 213**		106
Na	(g/kg)	0,99 ± 0,15 <sup>(4)</sup>		1,07 ± 0,04	108	1,3 ± 0,1	131	1,2 ± 0,1		1,2 ± 0,1		121
Ni	(µg/kg)	1550	100	1556 ± 55**	100	1398 ± 442**	90	2295 ± 201	x	2295 ± 201	x	148
P	(g/kg)	7,26 ± 0,17 <sup>(4)</sup>		7,33 ± 0,05	101	7,4 ± 0,4	102	7,0 ± 0,4**		7,0 ± 0,4**		96
Pb	(µg/kg)	2840	270	2983 ± 281**	105	3736 ± 650	x	2941 ± 648**		2941 ± 648**		104
S	(g/kg)	2,65	0,10	2,64 ± 0,05**	100	1,8 ± 0,1	x	2,67 ± 0,06**		2,67 ± 0,06**		101
Zn	(mg/kg)	75,9	3,6	76 ± 1**	100	74 ± 2*	97	77 ± 2**		77 ± 2**		101

<sup>(1)</sup> MAD é a mediana dos desvios padrão absoluto (Apêndice II)

<sup>(2)</sup> Intervalo de confiança calculado com 95% de probabilidade para seis determinações (Apêndice II)

<sup>(3)</sup> Critério de rejeição adotado pelo Programa "International Plant-Analytica Exchange - IPE" (Apêndice II)

<sup>(4)</sup> Valores certificados pelo "Comitee Inter-Institutes - CII" (Novozamsky et al., 1993a)

<sup>(5)</sup> Valores seguidos com dois asteriscos indicam que não há diferença significativa ao nível de 90% de probabilidade e um asterisco 95% (Apêndice II).

**Quadro V.6:** Comparação dos valores das medianas ou dos valores certificados (Novozamsky et al., 1993a) para os elementos da amostra do programa IPE-875, com os resultados obtidos pelos métodos de digestão em microondas, por via seca e por via úmida com ácidos nítrico-perclórico.

IPE 875	Valor de Referência			Digestão em Microondas			Digestão por Via Seca			Digestão por Via Úmida		
	Elemento	Unidade	Mediana	MAD <sup>(1)</sup>	Intervalo de confiança <sup>(2)</sup>	IPE <sup>(3)</sup>	Rec(%)	Intervalo de confiança	IPE	Rec(%)	Intervalo de confiança	IPE
Al	(mg/kg)	70 ± 10 <sup>(4)</sup>		36,8 ± 0,9	x	53	44 ± 7	63	33 ± 6	x	47	
B	(mg/kg)	22,49 ± 1,08 <sup>(4)</sup>		22 ± 1** <sup>(5)</sup>		98	35 ± 2	x	25 ± 3		111	
Ca	(g/kg)	8,14 ± 0,37 <sup>(4)</sup>		7,8 ± 0,1		96	7,8 ± 0,2		7,8 ± 0,5**		96	
Cd	(µg/kg)	61,0	7,0	58 ± 30**		95	69 ± 37**		81 ± 44**		133	
Cr	(µg/kg)	930	156	902 ± 120		97	675 ± 151		652 ± 176**		70	
Cu	(mg/kg)	2,30	0,30	2,0 ± 0,1		87	2,2 ± 0,2		2,0 ± 0,1		87	
Fe	(mg/kg)	69 ± 7,4 <sup>(4)</sup>		64 ± 4		93	63 ± 2		63 ± 4		91	
K	(g/kg)	29,6 ± 2,5 <sup>(4)</sup>		27,9 ± 0,9		94	25,4 ± 0,8		24,0 ± 0,4		81	
Mg	(g/kg)	1,22 ± 0,059 <sup>(4)</sup>		1,21 ± 0,05**		99	1,16 ± 0,03		1,13 ± 0,04*		93	
Mn	(mg/kg)	15,4 ± 0,6 <sup>(4)</sup>		15,6 ± 0,4**		101	15,1 ± 0,7*		16,1 ± 0,8*		105	
Mo	(µg/kg)	1463	80	1486 ± 105**		102	1045 ± 210	x	842 ± 193	x	58	
Na	(g/kg)	550 ± 59 <sup>(4)</sup>		535 ± 32**		97	607 ± 28		634 ± 19		115	
Ni	(µg/kg)	462	68,5	465 ± 25**		101	384 ± 47		426 ± 91**		92	
P	(g/kg)	3,75 ± 0,16 <sup>(4)</sup>		3,7 ± 0,1**		99	3,8 ± 0,1**		3,8 ± 0,1**		101	
Pb	(µg/kg)	300	48	333 ± 55**		111	385 ± 71*		311 ± 60**		104	
S	(g/kg)	7,08	0,25	7,0 ± 0,1**		99	3,8 ± 0,3	x	7,0 ± 0,2**		99	
Zn	(mg/kg)	17,0 ± 1,3 <sup>(4)</sup>		16,0 ± 0,7**		94	14,4 ± 0,9		15,7 ± 0,6**		92	

<sup>(1)</sup> MAD é a mediana dos desvios padrão absoluto (Apêndice II)

<sup>(2)</sup> Intervalo de confiança calculado com 95% de probabilidade para seis determinações (Apêndice II)

<sup>(3)</sup> Critério de rejeição adotado pelo Programa "International Plant-Analytica Exchange - IPE" (Apêndice II)

<sup>(4)</sup> Valores certificados pelo "Comitee Inter-Institutes - CIJ" (Novozamsky et al., 1993a)

<sup>(5)</sup> Valores seguidos com dois asteriscos indicam que não há diferença significativa ao nível de 90% de probabilidade e um asterisco 95% (Apêndice II).

**Quadro V.7:** Comparação dos valores das medianas para os elementos da amostra do programa IPE-996, com os resultados obtidos pelos métodos de digestão em microondas, por via seca e por via úmida com ácidos nítrico-perclórico.

IPE 996	Valor de Referência			Digestão em Microondas			Digestão por Via Seca			Digestão por Via Úmida		
	Mediana	MAD <sup>(1)</sup>	Intervalo de confiança <sup>(2)</sup>	IPE <sup>(3)</sup>	Rec(%)	Intervalo de confiança	IPE	Rec(%)	Intervalo de confiança	IPE	Rec(%)	
Al	(mg/kg)	46,0	12,2	42 ± 5 <sup>**</sup> (4)	91	47,7 ± 0,6	104	104	42 ± 6 <sup>**</sup>		91	
B	(mg/kg)	30,0	1,8	33,7 ± 0,3	112	63 ± 6	x	209	83 ± 11	x	278	
Ca	(g/kg)	6,57	0,28	6,58 ± 0,05 <sup>**</sup>	100	6,86 ± 0,06		104	6,5 ± 0,9*		99	
Cd	(µg/kg)	272	48	249 ± 9	92	167 ± 14		61	225 ± 22		83	
Cr	(µg/kg)	294	33	309 ± 125 <sup>**</sup>	105	255 ± 49*		87	236 ± 62*		80	
Cu	(mg/kg)	17,0	1,0	17,0 ± 0,5 <sup>**</sup>	100	15,3 ± 0,5		90	16 ± 1 <sup>**</sup>		99	
Fe	(mg/kg)	122	10	124 ± 10 <sup>**</sup>	102	123 ± 6 <sup>**</sup>		101	121 ± 9 <sup>**</sup>		99	
K	(g/kg)	55,1	1,9	54,6 ± 0,4*	99	56,2 ± 0,5		102	54 ± 2 <sup>**</sup>		99	
Mg	(g/kg)	2,65	0,07	2,70 ± 0,02	102	2,62 ± 0,04 <sup>**</sup>		99	2,6 ± 0,3 <sup>**</sup>		99	
Mn	(mg/kg)	31,9	2,1	30 ± 1 <sup>**</sup>	95	32,7 ± 0,5*		103	31 ± 7 <sup>**</sup>		98	
Mo	(µg/kg)	873	73	803 ± 8	92	567 ± 75	x	65	628 ± 102	x	72	
Na	(g/kg)	3,93	0,18	4,18 ± 0,06	106	5,10 ± 0,03	x	130	5,7 ± 0,3	x	144	
Ni	(µg/kg)	1373	72	1376 ± 42 <sup>**</sup>	100	851 ± 99	x	62	1107 ± 108	x	81	
P	(g/kg)	6,26	0,19	6,56 ± 0,03	105	6,49 ± 0,01		104	6,4 ± 0,8 <sup>**</sup>		102	
Pb	(µg/kg)	957	152	1141 ± 68	119	1178 ± 179*		123	1123 ± 115		117	
S	(g/kg)	3,30	0,13	3,55 ± 0,04	108	2,47 ± 0,06	x	75	3,29 ± 0,04		100	
Zn	(mg/kg)	34,0	1,5	34,1 ± 0,4 <sup>**</sup>	100	36 ± 2 <sup>**</sup>		105	33 ± 3 <sup>**</sup>		98	

<sup>(1)</sup> MAD é a mediana dos desvios padrão absoluto (Apêndice II)

<sup>(2)</sup> Intervalo de confiança calculado com 95% de probabilidade para seis determinações (Apêndice II)

<sup>(3)</sup> Critério de rejeição adotado pelo Programa "International Plant-Analytica Exchange - IPE" (Apêndice II)

<sup>(4)</sup> Valores seguidos com dois asteriscos indicam que não há diferença significativa ao nível de 90% de probabilidade e um asterisco 95% (Apêndice II)

**Quadro V.8:** Comparação dos valores das medianas para os elementos da amostra do programa IPE-767, com os resultados obtidos pelos métodos de digestão em microondas, por via seca e por via úmida com ácidos nítrico-perclórico.

IPE 767	Valor de Referência			Digestão em Microondas			Digestão por Via Seca			Digestão por Via Úmida		
	Elemento	Unidade	Mediana	MAD <sup>(1)</sup>	Intervalo de confiança <sup>(2)</sup>	IPE <sup>(3)</sup>	Rec(%)	Intervalo de confiança	IPE	Rec(%)	Intervalo de confiança	IPE
Al	(mg/kg)	213	38	205 ± 10** <sup>(4)</sup>	96	209 ± 9**	98	206 ± 10**	98	206 ± 10**	97	
B	(mg/kg)	28,2	2,2	32 ± 2*	113	67 ± 2	x	92 ± 6	x	92 ± 6	x	326
Ca	(g/kg)	21,6	0,9	22 ± 1**	100	22,3 ± 0,4	103	23 ± 2**	103	23 ± 2**	108	
Cd	(µg/kg)	418	81	454 ± 60**	109	411 ± 28**	98	428 ± 28**	98	428 ± 28**	103	
Cr	(µg/kg)	617	89	640 ± 46**	104	582 ± 44**	94	546 ± 25	94	546 ± 25	88	
Cu	(mg/kg)	4,71	0,59	4,6 ± 0,4	98	4,4 ± 0,1	94	4,6 ± 0,3**	94	4,6 ± 0,3**	98	
Fe	(mg/kg)	345	37	363 ± 10	105	346 ± 5	100	359 ± 21	100	359 ± 21	104	
K	(g/kg)	37,3	1,3	35,6 ± 0,8	95	34,1 ± 0,5	91	34 ± 2	91	34 ± 2	92	
Mg	(g/kg)	2,1	0,12	2,15 ± 0,06	102	2,14 ±	102	2,2 ± 0,2	102	2,2 ± 0,2	104	
Mn	(mg/kg)	19	1,4	22 ± 1	115	19,5 ± 0,5	103	21 ± 4	103	21 ± 4	111	
Mo	(µg/kg)	2520	230	2339 ± 14	93	2071 ± 62	82	2510 ± 66	82	2510 ± 66	100	
Na	(g/kg)	1,1	0,2	1,1 ± 0,1	100	2,0 ± 0,1	x	1,5 ± 0,1	x	1,5 ± 0,1	133	
Ni	(µg/kg)	868	127	890 ± 67,0	103	1061 ± 32	122	813 ± 27	122	813 ± 27	94	
P	(g/kg)	2,84	0,3	2,96 ± 0,02	104	2,90 ± 0,05	102	3,08 ± 0,03	102	3,08 ± 0,03	109	
Pb	(µg/kg)	3533	530	3199 ± 70	91	3231 ± 195,0	91	3125 ± 159	91	3125 ± 159	88	
S	(g/kg)	5,90	0,22	6,2 ± 0,2	104	5,12 ± 0,01	x	6,3 ± 0,6	x	6,3 ± 0,6	106	
Zn	(mg/kg)	119	6,0	123 ± 2*	103	111 ± 13	93	118 ± 10	93	118 ± 10	99	

<sup>(1)</sup> MAD é a mediana dos desvios padrão absoluto (Apêndice II)

<sup>(2)</sup> Intervalo de confiança calculado com 95% de probabilidade para seis determinações (Apêndice II)

<sup>(3)</sup> Critério de rejeição adotado pelo Programa "International Plant-Analytica Exchange - IPE" (Apêndice II)

<sup>(4)</sup> Valores seguidos com dois asteriscos indicam que não há diferença significativa ao nível de 90% de probabilidade e um asterisco 95% (Apêndice II)

Havlin e Soltanpour (1980) observaram também que os resultados para os elementos fósforo, cálcio, magnésio, zinco e cobre foram estatisticamente menores para a digestão com a mistura dos ácidos nítrico e perclórico quando comparados com a digestão com apenas o ácido nítrico, ao nível de 95% de probabilidade. Por outro lado, Topper e Kotube-Amacher (1990) observaram que os resultados foram superiores para a maioria dos elementos quando se empregava a digestão com ácido nítrico em sistema fechado aquecido por uma noite em um forno à temperatura de 110°C (1 g de material vegetal e 10 mL de ácido nítrico). A literatura sobre o assunto mostra uma certa inconsistência, que pode ser atribuída às variações ocorridas durante o processamento, tais como o tempo de digestão, a temperatura, a massa de amostra, o volume final da solução, e outras.

De acordo com os resultados aqui observados para o elemento fósforo na digestão com a mistura dos ácidos nítrico e perclórico, houve variações entre as amostras, sendo cerca de 85% de recuperação para a amostra "pepperbush" e 109% para a amostra IPE-767. Tal variação entre as amostras também ocorreu com o cálcio, o magnésio, o manganês, o ferro, o zinco e o cobre.

De um modo geral, os resultados para fósforo são maiores quando analisados por ICP-AES, pois nessa técnica é possível detectar todas as formas solúveis de fósforo, enquanto que pelo método colorimétrico determina-se apenas o fósforo na forma de fosfato (Mingorance et al., 1993 e Havlin e Soltanpour, 1980). Este fato pode ser verificado em praticamente todos os processos de digestão em todas as amostras estudadas para este elemento fósforo.

Os elementos sódio e boro apresentaram teores elevados de recuperação para todas as amostras, fato que pode ser devido à lixiviação de sódio e boro contidos nas vidrarias, principalmente para as novas. Zarcinas et al. (1987) observaram recuperações menores para o boro e mencionaram que esse resultado teria sido conseqüência da volatilização de seus compostos. Entretanto, Topper e Kotube-Amacher (1990) observaram teores superiores, porém estatisticamente aceitáveis, e concluíram que a utilização de vidrarias

bastante usadas não provoca contaminações, tanto para o boro como para o sódio.

A amostra "pepperbush" (Quadro V.4) não apresenta valor certificado para o alumínio, mas pela amostra IPE-875 (Quadro V.6), que apresenta certificação para o alumínio, pode-se observar que o valor de recuperação foi baixo, para todos os métodos de digestão. Isso se deve ao fato de que o alumínio está associado à sílica e sua liberação ocorre somente com o uso do ácido fluorídrico. Para a certificação da amostra IPE-875, empregou-se métodos que utilizam o ácido fluorídrico, liberando todo o alumínio (Novozamsky et al., 1993a). Essa mesma observação foi feita também por Bowman (1989), Topper e Kotube-Amacher (1990) e Novozamsky et al. (1993b), quando compararam os resultados para amostras certificadas, utilizando ácido fluorídrico ou não. No entanto, pode-se observar que o valor da mediana para o alumínio na amostra IPE-875, quando calculado pelos critérios do Programa IPE, fica em torno de  $33,4 \text{ mg kg}^{-1}$  (Novozamsky et al., 1993a) bem próximo ao valor obtido ( $33 \text{ mg kg}^{-1}$ /Quadro V.6), resultando em uma recuperação de 98%. Isso ocorreu porque a maioria dos laboratórios participantes do Programa IPE não utilizam métodos de digestão que empregam o ácido fluorídrico, o que desloca a mediana para valores mais baixos. Nos quadros V.5, V.7 e V.8, os teores de recuperação para o alumínio também apresentaram valores próximos à mediana, confirmando essa observação. O alumínio, por não ser considerado essencial para as plantas, normalmente não faz parte dos elementos determinados para o diagnóstico nutricional, mas a sua determinação é importante porque o seu excesso pode causar efeitos tóxicos (Munter et al., 1984).

Para os elementos cádmio, cromo, chumbo e níquel, os valores para a recuperação foram muito variáveis. Entretanto, alguns valores fora da faixa de recuperação proposta como aceitável (95 a 105%) foram considerados estatisticamente iguais ao nível de 90% ou de 95% de probabilidade, porque os teores desses elementos foram relativamente baixos nas amostras estudadas e os valores para os desvios padrão foram altos, levando a valores de "t" aceitáveis (ver Apêndice II). Um exemplo é o resultado de cádmio para a amostra IPE-875 (Quadro V.6), para o qual a recuperação para o método de digestão nítrico-

perclórico foi de 133%, não havendo diferença significativa ao nível de 90% de probabilidade.

Os baixos resultados encontrados para cromo também foram obtidos por Greenberg et al. (1990) em amostras certificadas, utilizando diferentes métodos de digestão, incluindo via úmida em sistemas abertos e fechados com ou sem aquecimento por microonda. Nenhum dos métodos utilizados recuperaram efetivamente o cromo, e os estudos feitos com o material filtrado e o digerido indicaram que, possivelmente, o cromo deve estar sendo perdido por volatilização (em média 30%).

Apesar de o molibdênio ser um micronutriente, não é comum ser determinado em rotina. Suas baixas concentrações encontradas nas plantas, exigem que se trabalhe com massas bem maiores, com a menor diluição possível e com procedimentos bem confiáveis para a sua determinação. As amostras IPE-883 e IPE-767 (Quadros V.5 e V.8) apresentaram resultados estatisticamente semelhantes ao nível de 90% de probabilidade, sendo que os resultados para as demais amostras foram estatisticamente diferentes ao nível de 95% e foram também rejeitados pelos critérios do Programa IPE. Não foi possível detectar o molibdênio na amostra "pepperbush" (Quadro V.4) pelo método de digestão dos ácidos nítrico e perclórico, porque sua concentração estava abaixo do limite de detecção do equipamento. Neste caso é essencial a inclusão de uma etapa de concentração do elemento.

A grande variabilidade dos resultados empregando a mistura dos ácidos nítrico e perclórico pode ser justificada pelo fato de esse sistema ser aberto, ocorrendo perdas com maior facilidade. Além disso, deve-se observar que a velocidade de oxidação varia de amostra para amostra. Para algumas, nota-se que o ataque químico é muito rápido com a formação de um tipo espuma que sobe pelas paredes dos tubos de digestão. Sabe-se que o uso desta mistura reagente não é recomendado para determinados tipos de matrizes, como por exemplo amostras de grãos que contenham alto teor de gordura. Estes aspectos já foram discutidos no item II.2. Como em rotina não se conhecem inicialmente todas as características das amostras, este procedimento deve ser utilizado com cautela. A variação observada nos resultados apresentados indica a restrição do

seu uso em rotina para a maioria dos elementos estudados. Outra observação é que o ácido perclórico que permanece em solução após a digestão, provoca desgaste nos tubos de Tygon da bomba peristáltica, que conduz a amostra até o nebulizador do ICP-AES. Como consequência tem-se a diminuição da quantidade de amostra que alcança o plasma e portanto resultados inferiores.

Com relação à digestão pelo método da via seca para a amostra certificada "pepperbush" (Quadro V.4), os resultados mais discrepantes foram para o sódio, com 583% de recuperação e para o chumbo com 78%. O alto teor de sódio, provavelmente, foi também devido ao uso de béqueres durante o processo de aquecimento com ácido, conforme já discutido anteriormente. Assim, como o sódio, o boro também está presente nas vidrarias, o que pode justificar o teor mais alto em relação aos demais métodos, apesar do boro não ter o seu valor certificado. Os baixos teores de recuperação para o cromo (85%) e níquel (90%) podem ser atribuídos à sílica, pois parece existir uma tendência desses elementos ficarem ocluídos na sílica que não é digerida (Thompson e Wagstaff, 1980). Provavelmente, o mesmo esteja ocorrendo para o chumbo (78%).

Em todas as amostras investigadas os resultados para enxofre pela digestão por via seca apresentou teores baixos ou rejeitados pelos critérios do Programa IPE. Isto é devido às altas temperaturas de incineração, 500°C, que volatilizam o enxofre (Jones et al., 1991). Além disso, na maioria das amostras, os teores para os elementos ferro, zinco, manganês tenderam a apresentar recuperações abaixo de 100%, provavelmente por estarem adsorvidos à sílica. No entanto, valores maiores para os macro e micronutrientes são obtidos para a digestão por via seca em comparação com a via úmida, fato também verificado por Mingorance et al. (1993), para os elementos cobre, manganês e zinco.

Embora o resultado para o alumínio obtido na amostra IPE-875 (Quadro V.6) com o método da via seca, não tenha sido rejeitado pelo programa IPE, o teor encontrado ( $44 \text{ mg kg}^{-1}$ ) foi mais baixo que o certificado ( $70 \text{ mg kg}^{-1}$ ), sugerindo a possibilidade do alumínio estar adsorvido na sílica.

Apesar de os resultados para molibdênio pelo método da via seca apresentarem diferenças significantes, sendo alguns rejeitados pelo programa IPE, esse procedimento é um dos mais utilizados. Isso porque é possível

trabalhar com massas grandes (até 5 gramas do material vegetal), permitindo uma precisão maior dos resultados (Bataglia et al., 1983).

Os resultados obtidos para a maioria dos elementos analisados pelo método da via seca foram estatisticamente diferentes ao nível de 95%, porém os valores podem ser considerados satisfatórios para trabalhos que envolvam a diagnose foliar. Esse método também é bastante prático e de fácil manuseio, podendo ser facilmente adaptado à análise em rotina, não necessitando de analista experiente. Dependendo da capacidade operacional do laboratório, podem ser digeridas de 50 a 150 amostras em um dia pelo mesmo analista.

O emprego do forno de microondas no processo de via úmida, apresentou uma melhor reprodutibilidade dos resultados para os elementos que tiveram problemas de determinação, como o enxofre, o boro e o molibdênio, no mesmo extrato. Praticamente todos os resultados utilizando a digestão por microondas foram aceitos no Programa IPE, com exceção da amostra IPE 875 (Quadro V.6) para o elemento alumínio, cujo problema já foi discutido anteriormente.

Para a amostra "pepperbush" (Quadro V.4) os resultados para o método de digestão em microondas apresentaram valores bem próximos aos certificados, sendo que a maioria não apresentou diferença estatística. Embora alguns resultados sejam considerados estatisticamente diferentes, os valores estão bem próximos dos certificados e, portanto, aceitáveis para os propósitos de avaliação nutricional das plantas. A maior porcentagem de recuperação foi para o elemento sódio (109%), porém não diferiu estatisticamente ao nível de 95%. Como já observado, o alto teor observado para o elemento fósforo pode ser explicado pelo sistema de detecção por ICP-AES.

Mingorance et al. (1993) digeriram a amostra "pepperbush" utilizando tanto uma mistura com o ácido nítrico e a água oxigenada e outra mistura com os ácidos nítrico e perclórico, usando uma programação no microondas bem mais complexa que a empregada neste trabalho. Os resultados encontrados por esses autores mostraram que apenas o cádmio apresentou um valor bem superior ao certificado, para a digestão com os ácidos nítrico e perclórico, o que não ocorreu nesta pesquisa (Quadro V.4). Por outro lado, os resultados para o ferro, cobre, manganês e zinco foram consistentes com os observados no artigo em questão,

mostrando que a complexidade operacional não produz necessariamente resultados melhores.

Topper e Kotube-Amacher (1990), em uma investigação preliminar, usaram água oxigenada (2 mL) e ácido nítrico (10 mL) e não notaram diferenças entre esse processo de digestão e o outro usando apenas o ácido nítrico (10 mL). Propuseram portanto, a adoção do método empregando apenas o ácido nítrico. Outros autores como Matejovic e Durackova (1994) também propuseram um método que consistia em processar 0,5 g do material vegetal em 10 mL de ácido nítrico com aquecimento no forno de microondas seguido de uma adição de 2 mL de água oxigenada e de um novo aquecimento, por cerca de 10 minutos. Os resultados observados foram, em geral, maiores para todos os elementos testados (fósforo, cálcio, magnésio, manganês, zinco, ferro e cobre), quando comparados a uma digestão com ácido nítrico em forno de microondas. Novamente os resultados foram discrepantes, indicando a complexidade analítica deste tipo de matriz. Deve-se evitar o uso de grandes quantidades de ácido pois, embora produzam bons resultados, podem danificar os equipamentos (ICP-AES, AAS-forno de grafite), levando a resultados não confiáveis (Mingorance et al., 1993).

Com a introdução do aquecimento assistido por microonda, o tempo de digestão utilizando basicamente as mesmas condições de trabalho de um procedimento por via úmida em sistema aberto, é bastante reduzido, chegando a alguns minutos. Praticamente para todos os tipos de material vegetal, o procedimento em microondas emprega 0,5 g de amostra e 10 mL de ácido nítrico (Rechcigl e Payne, 1990, CEM, 1991 e Kingston e Jassie, 1988) e aquecimento por 30 minutos ou mais na potência alta.

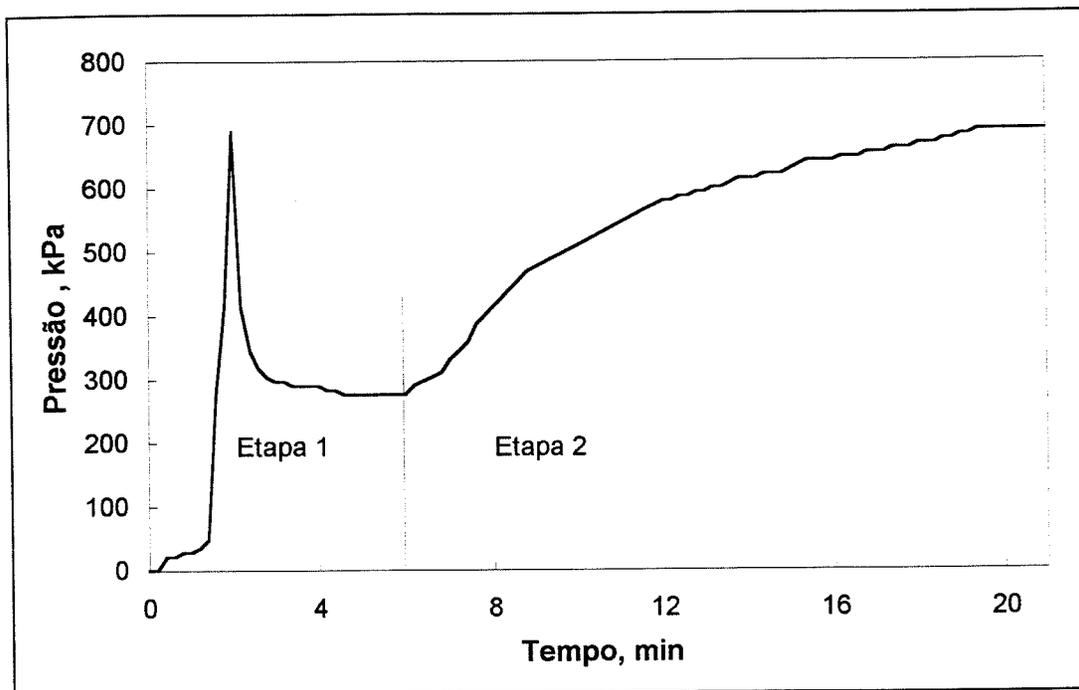
Sah e Miller (1992) utilizaram uma reação espontânea entre ácido nítrico, água oxigenada e material biológico, permitindo uma oxidação mais rápida da matéria orgânica. Além disso, esse procedimento utiliza pouco volume de ácido nítrico (1,0 mL), podendo-se portanto, diluir para volumes tão pequenos quanto 10 mL. Nesse trabalho os autores recomendam a digestão em uma única etapa, que consiste em 8 min na potência de 550 W. Em outro trabalho, Bañuelos e Akohoue (1994), testaram diferentes condições experimentais buscando um

método de digestão de plantas em microondas para a determinação de boro. As melhores recuperações (>90%) para o boro nas amostras estudadas foram observadas com as condições: 250 mg de amostra, 2,0 mL de ácido nítrico, 2,0 mL de água oxigenada, 1,0 mL de água, 30 minutos de pré-digestão e 30 minutos de digestão na potência de 590 W. Fridlung et al. (1994) também descreveram um procedimento utilizando essa mistura, adicionando 150 µL de ácido fluorídrico para a determinação de alumínio, silício e ferro em amostras de plantas. Esses autores empregaram um volume menor de ácido (0,5 mL) e a programação do microondas em duas etapas, 5 minutos na potência de 240 W e 8 minutos na potência de 540 W. Os resultados para os elementos em questão foram satisfatórios.

Baseado na literatura foram feitos vários testes preliminares até se obter as condições apresentadas nesta pesquisa. A aplicação inicial de uma potência mais baixa induz à reação espontânea e a aplicação posterior de uma potência e tempo maiores permitiu uma reação mais completa, deixando a solução bem límpida, sem que houvesse necessidade de filtração. A utilização de uma etapa de pré-digestão é importante pois determinadas amostras, após a adição das soluções, não ficam completamente umedecidas, devido à proporção entre a massa de amostra em relação às quantidades de ácido e água oxigenada (Bañuelos e Akohoue, 1994).

A figura V.4 mostra um gráfico obtido entre a pressão observada e o tempo de digestão utilizando o método de digestão por microondas proposto nesta tese (0,5 g de amostra + 1,0 mL de ácido nítrico + 2,0 mL de água oxigenada). Nota-se que realmente ocorre uma forte reação após cerca de um minuto do início da digestão.

Apesar das vantagens deste método, a velocidade analítica fica comprometida, pois em cada bateria são processadas apenas 12 amostras e destas, pelo menos uma deve ser o branco e outra o controle. Além disso, a manipulação do sistema e a limpeza do material exigem do analista bastante cautela, comprometendo a introdução desta metodologia na rotina. O alto custo do equipamento deve ser apontado como uma das desvantagens do método. Tais aspectos foram observados por Rechcigl e Payne (1990), após uma



**Figura V.4:** Comportamento da pressão interna do frasco controlador do forno de microondas (CEM MDS 2000) em função do tempo programado, para a digestão de plantas, usando o método da via úmida com aquecimento por microondas proposto.

comparação entre três processos de digestão: por microondas utilizando os ácidos nítrico e clorídrico; por via seca; e por via úmida com ácido sulfúrico e água oxigenada. Eles concluíram que o método de digestão por microondas apresentou os resultados mais consistentes para os elementos estudados, apesar do custo e das limitações experimentais. Por conseguinte, essa metodologia de microondas deve ser preferida quando pequenas quantidades de amostra são disponíveis (ex. de 0,1 a 0,5 g) e para trabalhos que requeiram resultados mais confiáveis, com boa precisão e exatidão, como por exemplo, na análise de plantas empregada em estudos envolvendo a seleção de extratores para avaliar a disponibilidade de nutrientes às plantas e em amostras que receberam a aplicação de resíduos.

Com base nos dados obtidos nesta tese procurou-se resumir as vantagens e as desvantagens para cada método estudado para a análise em rotina com fins de diagnosticar as condições nutricionais das plantas. As características se encontram descritas no quadro V.9.

**Quadro V.9:** Resumo das características dos métodos utilizados nessa tese para a digestão de plantas para fins da diagnose nutricional.

Método de Digestão	Tamanho da amostra	Reagentes usados	Equipamentos necessários	Tempo de digestão	Vantagens	Desvantagens
<b>Microondas</b>	0,5 g	HNO <sub>3</sub> / H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Microondas Frascos de digestão	0,5 h	◆ Rápido ◆ Pouca contaminação ◆ Reprodutibilidade ◆ Pouca volatilização	◆ Alto custo ◆ Cautela ◆ Bateria: 12 amostras ◆ Difícil limpeza
<b>Via Seca</b>	1 a 5 g	HCl	Béqueres Mufia Chapa aquecedora	4 h	◆ Maior massa ◆ Bom para rotina ◆ Fácil manuseio	◆ Volatilização ◆ Contaminação
<b>Via Úmida</b>	0,5 g	HNO <sub>3</sub> / HClO <sub>4</sub>	Tubos de digestão Bloco digestor	4 h	◆ Bom para rotina ◆ Fácil manuseio	◆ Mistura explosiva ◆ Contaminação ◆ Boa exaustão

Para os macronutrientes e alguns micronutrientes em plantas, a sensibilidade do método não é um fator muito significativo, pois o teor desses elementos são altos. Nesses casos, o procedimento escolhido é baseado apenas na sua precisão. De acordo com o Programa de Controle de Amostras de Plantas IPE, o método da via seca com solução final em ácido clorídrico é o procedimento mais empregado pelos laboratórios participantes. Entretanto, no Brasil, a preferência é pela mistura dos ácidos nítrico e perclórico (Raij et al., 1994). Esse comportamento terá que ser reavaliado pois, além de ter apresentado resultados analíticos muito variáveis, está cada vez mais difícil a aquisição do ácido perclórico, pelo fato de o produto ser controlado pelo Ministério do Exército. Além disso, esse procedimento exige um sistema de exaustão com lavadores de ácidos, o que duplica o custo da infra-estrutura.

Com os resultados aqui apresentados, optou-se por utilizar o método da via seca para as determinações dos seguintes elementos: cálcio, fósforo, manganês, magnésio, ferro, cobre, alumínio e zinco nas análises de rotina em plantas, para fins de diagnose nutricional, no Laboratório de Análise de Solos e Plantas do Instituto Agrônomo de Campinas. O método de digestão, por sua vez deve ser preferido em análises mais elaboradas, que necessitem de resultados mais precisos e confiáveis ou quando se necessita da determinação dos elementos não contemplados pelo método da via seca.

#### **V.4. ANÁLISE DE RESÍDUOS**

Nesse estudo foram investigados os metais que normalmente são determinados no controle de resíduos, isto é aqueles que podem causar toxicidade às plantas, bem como podem entrar na cadeia alimentar e causar conseqüentemente problemas ao homem e aos animais.

O quadro V.10 mostra os teores de ferro, manganês, zinco, cobre, chumbo, níquel, cromo e cádmio no material certificado "pond sediment" obtidos pelos

métodos de digestão: água-régia, EPA-3051 e o nítrico-perclórico. A comparação, em termos de porcentagem de recuperação, foi feita usando os valores certificados fornecidos pelo NIES (1981). A partir da análise estatística pelo teste "t", todos os resultados fornecidos pelos métodos aqui estudados foram estatisticamente diferentes, ao nível de 95% de probabilidade, dos respectivos teores certificados (Apêndice II). Com exceção do cádmio, todos os elementos apresentaram teores inferiores ao valor certificado. Essas diferenças podem ser atribuídas ao fato de que os valores certificados foram obtidos por digestão completa usando ácido fluorídrico, conforme descrito pelo NIES (1981). Os procedimentos empregados nesse estudo provocam uma digestão parcial, por não empregarem o ácido fluorídrico (Groot et al., 1982 e Thompson e Wagstaff, 1980). No caso desse sedimento específico, a diferença bastante significativa provavelmente ocorreu devido ao alto teor de sílica na amostra, cerca de 21% m/m. As menores recuperações em relação ao valor certificado foram dos elementos níquel e cromo, sendo de 72 a 77% e 48 a 61%, respectivamente. Isto provavelmente ocorreu porque esses elementos são os que ficam mais fortemente ligados à sílica (Thompson e Wagstaff, 1980). Os baixos resultados obtidos para a digestão pelo nítrico-perclórico, podem ser atribuídos às perdas decorrentes do refluxo prolongado, devido à dificuldade em se digerir as amostras. Também, de acordo com esses autores, se houver um refluxo prolongado, produzindo fumos de  $\text{HClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , perdas de até 70% de alguns elementos podem ser observadas. Com relação ao chumbo, os teores fornecidos pelos métodos estudados foram próximos entre si, variando a recuperação entre 86 a 90%. Estes dados confirmam os estudos dos autores Thompson e Wagstaff (1980), cujos resultados, usando a mistura dos ácidos nítrico e perclórico-fluorídrico ou apenas o ácido nítrico, apresentaram teores para Pb similares para todas as amostras estudadas.

Ainda com respeito ao quadro V.10, os resultados fornecidos pelos três métodos testados foram comparados entre si estatisticamente pelo método de Tukey (Apêndice II). Os resultados para os elementos níquel, cádmio e chumbo não diferiram estatisticamente entre os três métodos, indicando que qualquer que seja o método utilizado, o resultado será o mesmo. Por outro lado, para os

Quadro V.10: Resultados obtidos para o sedimento "Pond Sediment" com os extratores água-régia, ácido nítrico (USEPA) e ácidos nítrico e perclórico e os valores certificados dados pelo NIES (1981).

	Fe	Mn	Zn	Cu	Pb	Cr	Ni	Cd
%	mg kg <sup>-1</sup>							
Certificado	6,53 ± 0,35	770 <sup>(1)</sup>	343 ± 17	210 ± 12	105 ± 6	75 ± 5	40 ± 3	0,82 ± 0,06
<i>Água-régia</i>	5,85 ± 0,15 <sup>(e)(2)</sup>	691 ± 18 <sup>(a)</sup>	322 ± 9,9 <sup>(a)</sup>	186 ± 3,8 <sup>(a)</sup>	93,2 ± 3,5 <sup>(a)</sup>	45,9 ± 1,4 <sup>(a)</sup>	30,2 ± 2,9 <sup>(a)</sup>	0,94 ± 0,23 <sup>(a)</sup>
Recuper. (%)	90	90	94	90	89	61	76	114
<i>Ácido nítrico</i>	5,16 ± 0,20 <sup>(b)</sup>	624 ± 19 <sup>(b)</sup>	279 ± 15,0 <sup>(b)</sup>	183 ± 4,9 <sup>(a)</sup>	91,3 ± 5,1 <sup>(a)</sup>	40,7 ± 2,3 <sup>(b)</sup>	29,8 ± 2,7 <sup>(a)</sup>	0,86 ± 0,12 <sup>(a)</sup>
Recuper. (%)	80	81	81	87	87	54	75	104
<i>Nítrico-perclór.</i>	4,42 ± 0,14 <sup>(c)</sup>	514 ± 19 <sup>(c)</sup>	221 ± 10,5 <sup>(c)</sup>	154 ± 4,5 <sup>(b)</sup>	90,2 ± 3,2 <sup>(a)</sup>	36,1 ± 3,1 <sup>(c)</sup>	29,5 ± 3,5 <sup>(a)</sup>	0,72 ± 0,15 <sup>(a)</sup>
Recuper. . (%)	68	67	64	73	86	48	74	88

(1) O resultado para manganês é um valor de referência

(2) Valores com a mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade

elementos ferro, manganês, zinco e cromo, os resultados foram estatisticamente diferentes entre os métodos testados. Para o cobre os resultados não diferiram significativamente somente entre os métodos água-régia e 3051.

Os níveis mais altos de recuperação foram obtidos usando o método da água-régia, variando de 90 a 94% para os elementos ferro, manganês, zinco e cobre do sedimento. Para as extrações com os métodos 3051 e nítrico-perclórico, os níveis de recuperação variaram de 80 a 87% e 64 a 73%, respectivamente.

Essa tendência entre os métodos pode ser também verificada no quadro V.11 para todos os resíduos estudados, sendo que o método da água-régia extraiu em média 20% a mais que o EPA-3051 e 30% a mais que o nítrico-perclórico. De acordo com os resultados do quadro V.11, pode-se também observar que dentre os resíduos municipais, o lodo de esgoto apresentou maiores quantidades para todos os elementos investigados, independente do método utilizado, com exceção do cobre e manganês que foram maiores para o esterco de suíno.

Com relação ao lodo de esgoto, o método da água-régia extraiu quantidades maiores para os elementos, exceto para cádmio e níquel, quando comparados aos demais procedimentos, enquanto que o ácido nítrico apresentou valores maiores que para o nítrico-perclórico, exceto chumbo e cádmio. Para o composto de lixo proveniente da cidade de Mococa, o método da água-régia extraiu quantidades maiores que os demais, exceto para cobre e cádmio. Entretanto para o lixo da cidade de Adamantina, os resultados entre os métodos foram semelhantes, com exceção do zinco e do cromo, cujos teores foram maiores. A extração com nítrico-perclórico apresentou valores mais baixos que os demais métodos, exceto para níquel e cádmio. Essas diferenças entre as quantidades extraídas dos metais nesses resíduos orgânicos em cada método são provavelmente devido à presença de sílica, constituinte muito comum nesse tipo de resíduo.

Para os estercos de animais foi observada a mesma tendência, ou seja, os teores extraídos pela água-régia foram superiores ao EPA-3051 e esses por sua vez foram maiores ou semelhantes ao nítrico-perclórico. O elemento cádmio, no entanto, apresentou valores abaixo do limite de detecção ( $0,03 \text{ mg kg}^{-1}$ ) Quadro

**Quadro V.11:** Resultados analíticos encontrados para os resíduos orgânicos após os diferentes procedimentos para extração <sup>(1)</sup>.

Amostra	Método	Fe	Mn	Zn	Cu	Cr	Ni	Pb	Cd
..... mg kg <sup>-1</sup> .....									
%									
Composto de lixo-1	Ág. régia	1,74 a <sup>(2)</sup>	214 a	328 a	119 a	71 a	15,0 a	324 a	0,48 a
	HNO <sub>3</sub>	1,65 a	205 a	240 b	114 a	51 b	12,5 a	308 a	0,41 a
	Nít.-percl.	1,42 b	160 b	178 c	94 b	40 c	14,9 a	163 b	0,30 a
Resíduo Municipal	Composto de lixo-2	Ág. régia	2,44 a	354 a	89 a	65 a	43,1 a	85,3 a	0,45 a
	HNO <sub>3</sub>	1,77 b	267 b	256 b	78 ab	39 b	29,1 b	77,4 b	0,42 a
	Nít.-percl.	1,49 c	218 b	241 b	75 b	31 c	22,5 b	54,1 c	0,31 a
Lodo de esgoto	Ág. régia	5,01 a	497 a	1788 a	870 a	645 a	479 a	226 a	11,4 a
	HNO <sub>3</sub>	4,55 b	459 b	1442 b	816 b	566 b	459 a	185 b	8,6 ab
	Nít.-percl.	3,73 c	370 c	1234 c	689 c	497 c	370 b	168 b	8,1 b
Esterco animal	Ág. régia	0,79 a	869 a	1440 a	1338 a	33 a	12,4 a	14,0 a	0,25 a
	HNO <sub>3</sub>	0,55 b	802 b	1176 b	1285 ab	25 b	8,7 b	13,0 a	0,21ab
	Nít.-percl.	0,51 b	729 c	1150 b	1291 b	23 b	11,2 a	5,9 b	0,10 b
Bovino	Ág. régia	0,82 a	372 a	67 a	29 a	15 a	9,0 a	8,6 a	nd
	HNO <sub>3</sub>	0,62 b	346 a	72 a	28 a	8 b	4,8 b	5,9 b	nd
	Nít.-percl.	0,45 c	238 b	32 b	17 b	4 c	4,9 b	1,6 c	nd

nd: não detectado

<sup>(1)</sup> Valores corrigidos contra a prova em branco.

<sup>(2)</sup> Valores com mesma letra não difere significativamente ao nível de 5% de probabilidade

V.2) para o esterco bovino. As quantidades de metais extraídas do esterco suíno foram maiores que as do bovino, principalmente para zinco e cobre. Esse comportamento foi provavelmente causado pelos altos níveis desses elementos nas rações fornecidas aos animais, nas quais esses metais são utilizados para estimular o crescimento e apresentam efeitos antibióticos (Underwood, 1971).

Apesar de a digestão dos resíduos utilizando o método da água-régia ter sido mais eficiente, a opção pelo método da EPA tem sido preferida, por também apresentar resultados consistentes e por ser operacionalmente mais simples.

Com base nos resultados produzidos nesta tese (Abreu et al., 1996), a CETESB, órgão do Estado de São Paulo responsável pelo meio ambiente, adotou o método EPA 3051 como metodologia de análise de metais a ser empregado na legislação sobre "Sistemas de aplicação de lodos de tratamento biológico em áreas de uso agrícola".

---

## VI. CONCLUSÕES

---

Os resultados deste trabalho indicaram que a extração de boro em solos com solução de cloreto de bário assistida por microonda pode ser utilizada com grandes vantagens sobre o método de refluxo em água. O método proposto é um procedimento rápido com boa sensibilidade e reprodutibilidade, recomendável para análise em rotina. A determinação do boro no extrato empregando a técnica de ICP-AES apresentou resultados bastante satisfatórios quando comparado ao método espectrofotométrico com o reagente azometina-H. Este procedimento foi adotado como método oficial de extração e determinação de boro em solos do Estado de São Paulo.

O método de digestão para amostras de planta assistido por microonda foi também o que apresentou os melhores resultados para os elementos estudados, principalmente para a amostra certificada "pepperbush". Verificou-se que a rapidez no processamento das amostras fica comprometida quando a técnica de microondas é para análises em rotina, devido a quantidade de amostras processadas por bateria e pela dificuldade na limpeza do material de Teflon. Essas desvantagens podem ser contornadas se adquirida uma grande quantidade de frascos de digestão e válvulas de segurança, mas o custo operacional ficaria bastante elevado. O método de digestão por via úmida com a mistura dos ácidos nítrico e perclórico apresentou os resultados analíticos muito variáveis. A vantagem desta metodologia está na possibilidade de determinação dos elementos macronutrientes, incluindo o enxofre,

além dos micronutrientes, excetuando-se o boro. As maiores dificuldades para o emprego deste método são os problemas de contaminação dos ácidos, a exigência de uso de um sistema de exaustão eficiente e de boa qualidade, o manuseio da mistura que pode provocar explosões e a dificuldade de aquisição do ácido perclórico. O método de digestão por via seca apresentou resultados bastante satisfatórios para as análises em rotina dos elementos macronutrientes (exceto o enxofre) e dos micronutrientes (exceto o boro). Comparativamente esse método é o mais simples para o emprego em rotina e apresenta poucas dificuldades analíticas.

Com relação à análise dos resíduos, os resultados obtidos para o material certificado "Pond sediment" com o procedimento de digestão assistido por microonda usando água-régia foram maiores que os obtidos com o método EPA-3051 e esse, por sua vez, maiores aos obtidos pelo procedimento convencional com a mistura dos ácidos nítrico e perclórico, para todos os elementos estudados. Para as amostras de resíduos analisadas, de um modo geral, também foi observada a mesma tendência entre os métodos. Apesar do método da água-régia apresentar resultados maiores, a opção pelo método da EPA tem sido preferida, por apresentar resultados mais consistentes entre si e por ser operacionalmente mais simples.

---

## VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- Abreu, C.A. de, Abreu, M.F. de, van Raij, B., Bataglia, O.C. e Andrade, J.C. de. 1994a. The extraction of boron from soil by microwave heating for ICP-AES determination. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 25(12): 3321-3333.
- Abreu, C.A. de, van Raij, B. e Abreu, M.F. de. 1994b. Análise de micronutrientes em solos, o lucro certo. *O Agrônomo (Campinas)*, 46(1-3); 7-8.
- Abreu, M.F., Berton, S.R. e Andrade, J.C. de. 1996. Comparison of methods to evaluate heavy metals in organic wastes. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 27(5-8): 1125-1135.
- Abu-Samra, A., Morris, J.S. e Koirtiyohann, S.R. 1975. Wet ashing of some biological samples in a microwave oven. *Anal. Chem.*, 47: 1475-1477.
- Andrade, J.C. de, Strong III, F.C. e Martin, N.J. 1990. Rapid determination of zinc and iron in foods by flow-injection analysis with flame atomic-absorption spectrophotometry and slurry nebulization. *Talanta*, 37(7): 711-718.
- Andrade, J.C. de; Ferreira, M.; Baccan, N. e Bataglia, O.C. 1988. Spectrophotometric determination of boron in plants using monosegmented continuous flow analysis. *Analyst*, 113(2): 289-293.
- Bañuelos, G.S. e Akohoue, S. 1994. Comparison of microwave digestion with block digestion for selenium and boron analysis in plant tissue. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 25(9&10): 1655-1670.
- Barnes, R.M. 1984. Short course on plasma spectrochemical analysis. Society for Applied Spectroscopy. Universidade de Massachusetts, Amherst, MA, (EUA).
- Bataglia, O. C. e Raij, B. van. 1990. Eficiência de extratores na determinação de boro em solos. *R. bras. Ci. Solo*, 14(1):25-31.
- Bataglia, O. C., Furlani, A.M.C., Teixeira, J.P.F., Furlani, P.R. e Gallo, J.R. 1983. Métodos de Análise Química de Plantas. *Boletim Técnico do IAC*, vol.78, 48p.
- Bataglia, O. C.. 1991. Análise Química de Plantas p.289-308. In: Ferreira, M. E. e Cruz, M. C. P. da (eds.). *Micronutrientes na Agricultura*. Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, Piracicaba-SP.

- Berger, K.C. e Truog, E.. 1939. Boron determination in soils and plants. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 11:540-545.
- Berton, R.S. 1996. Utilização do composto de lixo na agricultura. XIII Congresso Latino Americano de Ciência do Solo. Realizado de 4 a 8 de agosto em Águas de Lindóia SP. Anais em CD-Rom.
- Boumans, P.W.J.M. 1987. Inductively coupled plasma emission spectroscopy. Part 1. *Chemical Analysis*. Vol. 90. John Wiley & Sons. Nova York (EUA). 583p.
- Boumans, P.W.J.M. 1991. Measuring detection limits in inductively coupled plasma emission atomic spectrometry using the "SBR- RSDB approach" -I. A tutorial discussion of the theory. *Spectrochim. Acta*, 46B: 431-445.
- Boumans, P.W.J.M. 1994. Detection limits and spectral interferences in atomic emission spectrometry. *Anal. Chem.*, 66(8): 459A-467A.
- Bowman, R.A. 1989. A rapid digestion method for analysis of P and certain cations by inductively coupled plasma emission spectrometry. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 20(5&6): 539-553.
- Browner, R.F. e Boorn, A.W. 1984. Sample introduction: the Achilles' heel of atomic spectroscopy? *Anal. Chem.*, 56(7): 787A-888A.
- Capelle, R. 1961. Colorimetric micro-determination of boron in aqueous media with derivatives of H and K-acids containing axo- or imino-groups. *Anal. Chim. Acta*, 24(6) : 555-572.
- CEM Innovators in Microwave Technology Sample Preparation. 1991. Note, SW 846-3051. App. note: EN-4. Rev. date: 11-91.
- CEM Innovators in Microwave Technology Sample Preparation. 1991. App. note: AG-1 a AG-11. Rev. date: 11-91.
- Chapman, H.D. 1966. Diagnostic criteria for plants and soils. Universidade da Califórnia. Riverside (EUA). 793p.
- Christian, G.D. 1994. *Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc..5ª edição. Nova York (EUA). 812p.
- Clément, A.. 1995. Determination of trace elements in foliar tissues of forest trees for nutrition diagnostics. *Sci. Total Environ.*, 176: 117-120.
- Comitee Inter-Instituts d'Etude des techniques Analytiques - CII. 1993. Comptes rendus des 61, 63 et 68<sup>èmes</sup>. Reunions de travail 1990,1991 e 1993.
- Dalquist, R.L. e Knoll, J.W. 1978. Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy: analysis of biological materials and soil for major, trace and ultra-trace elements. *Appl. Spectrosc.* 32: 1-30.
- Egreja Filho, F.B. 1993. Avaliação da ocorrência e distribuição química de metais pesados na compostagem do lixo domiciliar urbano. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. p.97.

- Facchin, I., Abreu, M.F. de, Andrade, J.C. de e Cantarella, H. 1994. Otimização do procedimento usado na determinação espectrofotométrica de fósforo em solos após extração com resinas de troca iônica. *R. bras. Ci. Solo*, 18: 7-13.
- Federal Register. USEPA. 1993. Rules and Regulations. 58(32): 9392.
- Fridlung, S., Littlefield, S. e Rivers, J. 1994. The use of modified microwave digestion/ dissolution for the quantitative determination of aluminum, silicon, and iron in biological materials by ICP-AES. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 25(7&8): 933-941.
- Fry, R.C. e Denton, M.B. 1977. High solids sample introduction for flame atomic absorption analysis. *Anal. Chem.* 49(9): 1413-1417.
- Gestring, W.D. e Soltanpour, P.N.. 1981. Boron analysis in soil extracts, and plant tissue by plasma emission spectroscopy. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 12:733-742.
- Gilman, L.B. 1988. General guidelines for microwave sample preparation. CEM Corporation. Matthews (EUA). 85p.
- Gomes, F.P. 1987. Curso de Estatística Experimental. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". USP. 12ª edição. Piracicaba, 467p.
- Greenberg, R.R., Kingston, H.M., Watters, R.L. e Pratt, K.W. 1990. Dissolution problems with botanical reference materials. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 338: 394-398.
- Griepink, B.; Muntau, H. e Colinet, E. 1984. Certification of contents of some heavy metals (Cd, Co, Cu, Mn, Hg, Ni, Pb and Zn) in three types of sewage sludge. *Fresenius J. Anal. Chem.* 318: 490-494.
- Groot, A. J. de, Zschuppe, K.H. e Salomons, W. 1982. Standardization of methods of analysis for heavy metals in sediments. *Hydrobiologia*, 92: 689-695.
- Grossi, M.G.L. 1993. Avaliação da qualidade dos produtos obtidos de usinas de compostagem brasileiras de lixo doméstico através da determinação de metais pesados e substâncias tóxicas. Tese de Doutorado. Instituto de Química - Universidade de São Paulo. 222p.
- Gupta, U.C. 1979. Some factors affecting the determination of hot-water-soluble boron from podzol soils using azomethine-H. *Can. J. Soil Sci.*, 59:241-247.
- Halls, D.J., Mohl, C. e Stoepler, M. 1987. Application of rapid furnace programmes in atomic absorption spectrometry to the determination of lead, chromium and copper in digests of plant material. *Analyst*, 112(2): 185-189.
- Havlin, J.L. e Soltanpour, P.N.. 1980. A nitric acid plant tissue digest method for use with inductively coupled plasma spectrometry. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 11(10): 969-980.
- Hewitt, A.D. e Reynolds, C.M. 1990. Dissolution of metals from soils and sediments with a microwave nitric acid digestion technique. *At. Spectrosc.*, 11(5):187-192.

- Hewitt, E.J. e Smith, T.A. 1975. *Plant Mineral Nutrition*. Londres, English University Press, 298p.
- Hoening, M. 1995. Critical discussion of trace element analysis of plant matrices. *Sci. Total Environ.*, 176: 85-91.
- Horwitz, W. (ed). 1970. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 11<sup>a</sup> edição. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC (EUA) p.880
- Houba, V.J.G. e Uittenbogaard, J.. 1994. Chemical composition of various plant species. Department of soil science and plant nutrition. Wageningen Agricultural University- Holanda, p.178 e 204.
- Houba, V.J.G., Novozamsky, I. e van der Lee, J.J. 1994a. Status and future of soil and plant analysis. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 25(7&8):753-765.
- Houba, V.J.G., Novozamsky, I. e van der Lee, J.J. 1994b. Standardization and validation of methods of soil and plant analysis as conditions for accreditation. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 25(7&8):827-841.
- Houba, V.J.G., Novozamsky, I. e van der Lee, J.J. 1995. Influence of storage of plant samples on their chemical composition. *Sci. Total Environ.*, 176: 73-79.
- Hwang, J.D. e Wang, W.J. 1995. Application of ICP-AES to analysis of solutions. *Applied Spectrosc. Reviews*, 30(4): 231-350.
- Ingle, Jr., J.D. e Crouch, S.R. 1988. *Spectrochemical Analysis*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey (EUA). 589p.
- Isaac, R.A. e Johnson, W.C. 1985. Elemental analysis of plant tissue by plasma-emission spectroscopy: Collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 68: 499-505.
- Israel, Y. e Barnes, R.M. 1990. On-line dilution, steady state concentrations by Tandem injection and merging stream. Application to inductively coupled plasma atomic emission spectrometry sequential multielement soil analysis. *Analyst*, 115(11): 1411-1417.
- Jassie, L.B. e H.M. Kingston. 1988. Introduction to microwave acid decomposition, p.1-8. In: H.M. Kingston, and L.B. Jassie (eds). *Introduction to microwave sample preparation*. ACS Professional Reference Book, American Chemical Society, Washington (EUA).
- Jeffrey, A.J. e McCallum, L.E. 1988. Investigation of a hot 0,01M CaCl<sub>2</sub> soil boron extraction procedure followed by ICP-AES analysis. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 19(6): 663-673.
- Jones Jr., J.B. e Case, V.W.. 1990. Sampling, handling, and analyzing plant tissue samples. p. 389-425. In: Westerman, R. L. (ed) *Soil Testing and Plant Analysis*, 3<sup>a</sup> edição, Soil Science Society of America, Inc., Madison (EUA).
- Jones Jr., J.B., Large, R.L., Pfeiderer, D.B. e Klosky, H.S. 1971. How to properly sample for a plant analysis. *Soils & Crops*, 23: 15-18.
- Jones Jr., J.B., Wolf, B. e Mills, H.A. 1991. *Plant Analysis Handbook*. Micro-macro Publishing, Inc. Athens (EUA). 203p.

- Kingston, H.M. e Jassie, L.B. 1986. Microwave energy for acid decomposition at elevated temperatures and pressure using biological and botanical samples. *Anal. Chem.*, 58: 2535-2541.
- Kingston, H.M. e Jassie, L.B. 1988. Monitoring and predicting parameters in microwave dissolution. p. 91-154. In: Kingston, H.M. e Jassie, L.B.. (eds) *Introduction to microwave sample preparation*. ACS Professional Reference Book, American Chemical Society, Washington (EUA).
- Knapp, G. 1982. Aufschlußmethoden zur Bestimmung von Spurenelementen in biologischen Materialien. *Ärztl. Lab.* 28: 179-186.
- Kocherlakota, N.. 1992. Factors to be considered in the preparation of single and multi-element standards for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Analyst*, 117 (3): 401-406.
- Kuss, H.-M. 1992. Applications of microwave digestion technique for elemental analyses. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 343: 788-793.
- Layman, L.R. e Lichte, F.E. 1982. Glass frit nebulizer for atomic spectrometry. *Anal. Chem.*, 54(4): 638-642.
- Lindsay, W.L. e Cox, F.R. 1985. Micronutrient soil testing for the tropics. *Fer. Res.*, 7: 169-200.
- Lopes, A.S. e Carvalho, J.G. 1988. Micronutrientes: critérios de diagnose para solo e planta, correção de deficiências e excesso. In: Borkert, C.M. (ed.). *Anais do simpósio: Enxofre e micronutrientes na agricultura brasileira. XVII Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo*, Londrina. p. 133-178.
- Mahler, R.L., Naylor, D.V. e Fredrickson, M.K. 1984. Hot water extraction of boron from soils using sealed plastic pouches. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 15:479-492.
- Makert, B. 1993. Instrumental Analysis of Plants. In: Makert, B. (ed.). *Plant as Biomonitor - indicators for heavy metals in the terrestrial environment*, VCH - Publisher, Weinheim, p. 65-103.
- Makert, B. 1995. Quality assurance of plant sampling and storage. In: Quevauviller, Ph. (ed.) *Quality assurance in environmental monitoring - Sampling and sample pretreatment*, VCH-Publisher, Weinheim, p. 215-254.
- Matejovic, I. e Durockova, A. 1994. Comparison of microwave digestion, wet and dry mineralization and solubilization of plant sample for determination of Ca, Mg, K, P, Na, Fe, Zn, Cu & Mn. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 25(7&8): 1277-1288.
- McGeehan, S.L., Topper, K. e Naylor, D.V. 1989. Source of variation in hot water extraction, and colorimetric determination of soil boron. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 20:1777-1786.
- McGrath, S.P. and Cunliffe, C.H. 1985. A simplified method for the extraction of the metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sewage sludges. *J. Sci. Food Agric.* 36: 794-798.

- Mermet, J.M. e Poussel, E. 1995. ICP emission spectrometers: 1995 analytical figures of merit. *Applied Spectrosc.*, 49(10): 12A-18A.
- Miller, R.O. 1993. *Microwave Digestion Theory and Practice*. Apostila, 6p.
- Miller-Ihli, N.J. 1988. Trace element determination in biologicals using atomic absorption spectrometry. *J. Res. Nat. Bureau Stand.*, 93(3): 350-354.
- Mingorance, M.D., Pérez-Vazquez, M.L. e Lachica, M. 1993. Microwave digestion methods for the atomic spectrometric determination of some elements in biological samples. *J. Anal. At. Spectrom.*, 8(9): 853-858.
- Ministry of Agriculture, Fisheries And Food. 1986. *The analysis of agricultural materials*. 3ª edição. Reference book 427. Londres (Inglaterra) 229p.
- Moore, G.L. 1989. *Introduction to inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*. Analytical Spectroscopy Library-Vol. 3. Elsevier, Holanda, 327p.
- Munter, R.C., Halverson, T.L. e Anderson, R.D.. 1984. Quality assurance for plant tissue analysis by ICP-AES. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 15(11): 1285-1322.
- Munter, R.C.. 1990. Advances in soil testing and plant analysis analytical technology. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 21(13-16): 1831-1841.
- Neas, E.D. e Collins, M.J.. *Microwave Heating*. p. 7-32. Kingston, H.M. e Jassie, L.B.. (eds) *Introduction to microwave sample preparation*. ACS Professional Reference Book, American Chemical Society, Washington (EUA).
- NIES- National Institute for Environmental Studies. Japan Environment Agency. 1981. *Certified Reference Material, nº 2, Pond sediment*.
- Nieuwenhuize, J. ; Poley-Voz, C.H.; van der Akker, A. H. and van Delft, W.. 1991. Comparison of microwave and conventional extraction techniques for the determination of metals in soil, sediment and sludge samples by atomic spectrometry. *Analyst*, 116(4): 347-351.
- Nieuwenhuize, J. e Poley-Voz, C.H.. 1989. A rapid microwave dissolution method for determination of trace and minor elements in lyophilized plant material. *At. Spectrosc.*, 10(55): 148-153.
- Novozamsky, I.; Houba, V.J.G., Daniel, R.C. e membros do CII. 1993a. Certification of cabbage and carnation samples and their use in an international proficiency study. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 345:198-201.
- Novozamsky, I.; Houba, V.J.G., van der Lee, J.J., van Eck, R. e Mingorance, M.D. 1993b. A convenient wet digestion procedure for multielement analysis of plant materials. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 24(19&20): 2595-2605.
- Odom, J.W. 1980. Kinetics of the hot water soluble boron soil test. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 11(7): 759-765.
- Okamoto, K. 1981. Preparation, analysis and certification of pepperbush standard reference material. *NIES.* ,18.: 91-93.

- Parker, D.R. e Gardner, E.H. 1981. The determination of o hot-water-soluble boron in some acid Oregon soils using a modified azomethine-H procedure. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 12:1311-1322.
- Pavan, M.A., Chaves, J.C.D., Miyazawa, M., Cardoso, R.M.L. e Silva, E. da. 1984. Remoção de resíduos químicos e físicos da superfície das folhas para diagnóstico nutricional do cafeeiro. *R. bras. Ci. Solo*, 8: 319-324.
- Peck, T.R. e Soltanpour, P. N. 1990. The principles of soil testing. p. 1-9. In: Westerman, R.L. (ed). *Soil testing and Plant Analysis*. 3ª edição, Soil Science Society of America, Inc., Madison (EUA).
- Peck, T.R.. 1990. Soil testing: past, present and future. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 21(13-16): 1165-1186.
- Prudnikov, E.D.; Elgersma, J.W. e Smit, H.C. 1994. Theoretical calculation of the standard deviation and detection limit inductively coupled plasma emission atomic spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 9: 619-622.
- Quaggio, J.A. e Raij, B. van. 1979. Comparação de métodos rápidos para a determinação da matéria orgânica em solos. *R. bras. Ci. Solo*, 3: 184-187.
- Quaggio, J.A., Cantarella, H. e Raij, B. van. 1994. Evolution of the analytical quality of soil testing laboratories integrated in a sample exchange program. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 25(7&8): 1007-1014.
- Quaggio, J.A., Raij, B. van e Malavolta, E. 1985. Alternative use of the SMP-buffer solution to determine lime requirement of soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 16: 245-260.
- Quevauviller, Ph. 1995. Conclusions of the workshop-improvements of trace element determinations in plant matrices. *Sci. Total Environ.*, 176: 141-148.
- Quevauviller, Ph., Sloot, H.A. van der, Ure, A., Muntau, H., Gomez, A. e Rauret, G. 1996. Conclusions of the workshop: harmonization of leaching/extraction tests for environmental risk assessment. *Sci. Total Environ.*, 178: 133-139.
- Raij, B. van. 1991. Fertilidade do solo e adubação. Editora Agronômica Ceres Ltda. Associação Brasileira para a pesquisa da potassa e do fosfato. São Paulo. p.343.
- Raij, B. van; Cantarella, H.; Quaggio, J.A., Prochnow, L.I., Vitti, G.C. & Pereira, H.S. 1994. Soil testing and plant analysis in Brazil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 25(7&8): 739-751.
- Raij, B. van; Quaggio, J.A., Cantarella, H.; Ferreira, M.E., Lopes, A.S. e Bataglia, O.C. 1987. *Análise Química do Solo para Fins de Fertilidade*. Fundação Cargill, Campinas, 170p.
- Rechcigl, J.E. e Payne, G.G. 1990. Comparison of a microwave digestion system to other digestion methods for plant tissue analysis. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 21(19&20): 2209-2218.
- Reisenauer, H.M., Walsh, L.H. e Hoefft, R.G.. 1973. Testing soils for sulphur, boron, molybdenum, and chlorine. pp.182-187. In: Walsh, L.H. e Beaton, J.D. (eds). *Soil testing and plant analysis*. Soil Sci. Soc. of Am. Inc., Madison.

- Ribeiro, A.C. e Tucunango Saradia, W.A. 1984. Avaliação de extratores para zinco e boro disponíveis em latossolos do Triângulo Mineiro. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 8: 85-89.
- Sah, R.M. e Miller, R.O. 1992. Spontaneous reaction for acid dissolution of biological tissues in closed vessels. Anal. Chem., 64(2): 230-233.
- Sharp, B.L. 1988a. Pneumatic nebulisers and spray chamber for inductively coupled plasma spectrometry. A review. Part 1. nebulisers. J. Anal. At. Spec., 3 (5):613-644.
- Sharp, B.L.. 1988b. Pneumatic nebulisers and spray chamber for inductively coupled plasma spectrometry. A review. Part 2. Spray chambers. J. Anal. At. Spec., 3 (7):939-961.
- Skoog, D.A. e Leary, J.J. 1992. Principles of instrumental analysis. 4ª edição. Harcourt Brace college Publishers. Nova York (EUA) 700p.
- Smith, P.F.. 1962. Mineral analysis of plant tissue. Annual Review of Plant Physiology, 13: 81-108.
- Smith, T.R. e Denton, M. B.. 1990. Evaluation of current nebulizers and nebulizer characterization techniques. Appl. Spectrosc., 44(1):21-24.
- Soltanpour, P.N., Jones, J.B. e Workman, S.M., 1982. Optical emission spectrometry. 3-5.3, pp 55-57 In: Page, A.L. et al. (eds) Methods of Soil Analysis, Part 2, 2ª edição, American Society of Agronomy, Madison (EUA).
- Suddendorf, R.F. e Boyer, K.W. 1978. Nebulizer for analysis of high salt content samples with ICP-AES. Anal. Chem. 50(4): 638-642.
- Thompson, K. C. and Wagstaff, K. 1980. Simplified method for the determination of cadmium, chromium, copper, nickel, lead and zinc in sewage sludge using atomic-absorption spectrometry. Analyst, 105(9): 883-896.
- Thompson, M. 1987. Detection limits - Confidence or uncertainty. Anal. Proc., 24: 355-357
- Topper, K. e Kotube-Amacher, J.. 1990. Evaluation of a closed vessel acid digestion method for plant analyses using inductively coupled plasma spectrometry. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 21(13-16): 1437-1455.
- Trani, P.E.; Hiroce, H. e Bataglia, O.C. 1983. Análise foliar: amostragem e interpretação. Campinas, Fundação Cargill. 18p.
- Tucker, M.R. e Hight, P.T. 1990. A comparison of the results from three soil testing laboratories using the Mehlich-3 extractant on Southeastern coastal plain soils. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 21(17&18): 2197-2208.
- Underwood, E.J. 1971. Trace elements in human and animal nutrition. 3rd. edition. Academic Press. New York
- Ure, A.M. 1996. Single extraction schemes for soil analysis and related applications. Sci. Total Environ., 178: 3-10.

- Wallace, A., Kinnear, J. Cha, J.W. e Romney, E.M. 1980. Effect of washing procedures on mineral analyses and their clusters analyses for orange leaves. *J. Plant Nutr.*, 2: 1-9.
- Watson, C.A. 1994. Analytical methods for the determination of (trace) metals and other elements. P. 446-471. In: *Official and standardized methods of analysis*, 3ª edição. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, Inglaterra.
- White, Jr, R.T.. 1988. Open reflux vessels for microwave digestion. p.53-77. In: Kingston, H.M. e Jassie, L.B.. (eds) *Introduction to microwave sample preparation*. ACS Professional Reference Book, American Chemical Society, Washington (EUA).
- Winefordner, J.D.; Petrucci, G.A.; Stevenson, C.L. e Smith, B.W. 1994. Theoretical and practical limits in atomic spectroscopy. *J. Anal. At. Spectrom.*, 9: 131-143.
- Wolf, B. 1971. The determination of boron in soil extracts, plant materials, composts, manure, water, and nutrient solutions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 2:263-374.
- Zarcinas, B.A., Cartwright, B. e Spouncer, L.R.. 1987. Nitric acid digestion and multi-element analysis of plant material by inductively coupled plasma spectrometry. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 18(1): 131-146.

---

## **Apêndice I**

---

### ***PREPARO DA CURVAS DE CALIBRAÇÃO***

Para facilitar o preparo das soluções das curvas de calibração multielementares, foi inicialmente preparada uma solução coquetel a partir das soluções estoques individuais de cada elemento em concentrações de: 1000 mg L<sup>-1</sup> (Spex), 5000 mg L<sup>-1</sup> ou 10000 mg L<sup>-1</sup> (Merck). E a partir desta solução coquetel preparou-se então as soluções padrão de trabalho. Para cada método estudado foi preparada uma curva de calibração, com as mesmas condições de acidez, pH e teor salino utilizadas no preparo das amostras.

As curvas para cada método continham pelo menos cinco padrões de concentração conhecida, sendo designados por: STDLOW, STD1, STD2, STD3 e STDHIGH. O uso destes nomes é necessário para que o equipamento ICP-AES utilizado nesse trabalho, compreendesse que se tratava da curva de calibração e fizesse a cada vinte amostras, uma recalibração com os pontos extremos da curva, STDLOW e STDHIGH.

O quadro A.1 descreve as concentrações da solução coquetel e das soluções padrão de trabalho, utilizadas em cada método e para cada elemento.

**Quadro A.1:** Concentrações das soluções coquetel e de trabalho utilizadas para calibração do espectrômetro ICP-AES, para os diferentes métodos estudados.**DETERMINAÇÃO DE BORO EM SOLOS**

Método: Água quente sob refluxo	Soluções em $\text{CaCl}_2$ $0,0025 \text{ mol L}^{-1}$						
Método: $\text{BaCl}_2$ e microondas	Soluções em $\text{BaCl}_2$ $1,25 \text{ g L}^{-1}$						
Elemento	Conc. Coquetel	Concentração da curva de calibração					Unidade
		STDLOW	STD1	STD2	STD3	STDHIGH	
B	4,00	0,0	0,2	0,4	0,6	0,8	$\text{mg L}^{-1}$

**ANÁLISE DE PLANTAS**

Método: Via Seca	Soluções em $\text{HCl}$ $1 \text{ mol L}^{-1}$					
Método: Via Nítrico-Perclórico	Soluções em $\text{HClO}_4$ $0,025 \text{ mol L}^{-1}$					
Método: $\text{HNO}_3$ - $\text{H}_2\text{O}_2$ -Microondas	Soluções em $\text{HNO}_3$ $0,7 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{H}_2\text{O}_2$ $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ .					

Elemento	Conc. Coquetel	Concentração da curva de calibração					Unidade
		STDLOW	STD1	STD2	STD3	STDHIGH	
Ca	1500	0	75	150	225	300	$\text{mg L}^{-1}$
Mg	500	0	25	50	75	100	$\text{mg L}^{-1}$
P	250	0	12,5	25,0	37,5	50,0	$\text{mg L}^{-1}$
K	1500	0	75	150	225	300	$\text{mg L}^{-1}$
S	250	0	12,5	25,0	37,5	50,0	$\text{mg L}^{-1}$
Fe	50	0	2,5	5,0	7,5	10,0	$\text{mg L}^{-1}$
Mn	50	0	2,5	5,0	7,5	10,0	$\text{mg L}^{-1}$
Al	50	0	2,5	5,0	7,5	10,0	$\text{mg L}^{-1}$
Zn	5	0	0,25	0,50	0,75	1,00	$\text{mg L}^{-1}$
Cu	2,5	0	0,13	0,25	0,33	0,50	$\text{mg L}^{-1}$
B	1	0	0,05	0,10	0,15	0,20	$\text{mg L}^{-1}$
Pb	1	0	0,05	0,10	0,15	0,20	$\text{mg L}^{-1}$
Cd	250	0	12,5	25,0	37,5	50	$\mu\text{g L}^{-1}$
Cr	750	0	37,5	75,0	112,5	150	$\mu\text{g L}^{-1}$
Ni	750	0	37,5	75,0	112,5	150	$\mu\text{g L}^{-1}$
Mo	750	0	37,5	75,0	112,5	150	$\mu\text{g L}^{-1}$

## Quadro A.1: Continuação

## ANÁLISE DE RESÍDUOS

Método: EPA 3051	Soluções em $\text{HNO}_3$ 3,6 mol $\text{L}^{-1}$
Método: Via Nítrico-Perclórico	Soluções em $\text{HClO}_4$ 0,025 mol $\text{L}^{-1}$
Método: Água Régia - Microondas	Soluções em $\text{HCl}$ 2,9 mol $\text{L}^{-1}$ e $\text{HNO}_3$ 1,5 mol $\text{L}^{-1}$

Elemento	Conc. Coquetel	Concentração da curva de calibração					Unidade
		STDLOW	STD1	STD2	STD3	STDHIGH	
Fe	1500	0	60	150	210	300	mg $\text{L}^{-1}$
Mn	20	0	0,8	2,0	2,8	4,0	mg $\text{L}^{-1}$
Al	200	0	8,0	20,0	28,0	40,0	mg $\text{L}^{-1}$
Zn	50	0	2,00	5,00	7,0	10,0	mg $\text{L}^{-1}$
Cu	15	0	0,60	1,50	2,10	3,00	mg $\text{L}^{-1}$
Pb	20	0	0,80	2,00	2,80	4,00	mg $\text{L}^{-1}$
Cd	1000	0	40,0	100	140	200	$\mu\text{g}$ $\text{L}^{-1}$
Cr	6000	0	240	600	840	1200	$\mu\text{g}$ $\text{L}^{-1}$
Ni	2000	0	80,0	200	280	400	$\mu\text{g}$ $\text{L}^{-1}$
B	6000	0	240	600	840	1200	$\mu\text{g}$ $\text{L}^{-1}$
Mo	6000	0	240	600	840	1200	$\mu\text{g}$ $\text{L}^{-1}$

---

## Apêndice II

---

### *ANÁLISE ESTATÍSTICA.*

Todos os métodos estatísticos descritos a seguir foram baseados em Gomes (1987).

#### **Teste “t” de “Student” aplicável à regressão**

No caso da análise de boro em solos foi comparado o método de referência (Berger e Troug, 1939) ao método proposto nesse trabalho. Para a comparação de amostras diferentes foi feita uma regressão linear entre os métodos. Através do coeficiente de correlação pode-se apenas afirmar se há uma correlação entre os dados. Quanto mais próximo de um (1) for o valor do coeficiente de correlação melhor será a correlação entre os dados.

Apesar dos bons resultados para a correlação não se pode afirmar se realmente os métodos são equivalentes. Para que se possa afirmar que os dois métodos comparados não diferem entre si, é necessário avaliar na equação de regressão do tipo  $y = mx + b$ , se o coeficiente angular  $m$  não difere estatisticamente de um (1) e o coeficiente linear  $b$  não difere de zero (0). Com os coeficientes linear e angular e os desvios padrão correspondentes pode-se, através do teste "t", avaliar se há ou não diferença de um e zero, respectivamente.

Os coeficientes angular e linear são calculados da seguinte forma:

$$m = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$b = \bar{y} - m\bar{x}$$

Os desvios padrão correspondentes são calculados da seguinte maneira:

$$s_m = \sqrt{\frac{s_y^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{N}}}$$

$$s_b = s_y \sqrt{\frac{1}{N - \frac{(\sum x)^2}{\sum x^2}}}$$

onde :

$$s_y = \sqrt{\frac{[\sum y^2 - (\sum y)^2 / N] - m^2 [\sum x^2 - (\sum x)^2 / N]}{N - 2}}$$

Com o auxílio do teste "t" pode-se então verificar se o coeficiente angular difere significativamente de um (1) e o linear de zero (0), portanto:

$$t = \frac{m - 1}{s_m / \sqrt{N}}$$

e

$$t = \frac{b - 0}{s_b / \sqrt{N}}$$

Com o número de graus de liberdade, pode-se obter os limites de "t" em tabelas para os diferentes níveis de probabilidade. Se o valor calculado for menor que o tabelado, diz-se que não há diferença significativa do número um para o coeficiente angular e do número zero para o linear.

Os cálculos envolvidos nesse trabalho para esse fim, foram feitos com o auxílio do programa EXCEL (Microsoft, 1994).

## Intervalo de Confiança

Para as análises de plantas foram utilizadas amostras com valores certificados e de referência, com repetições para cada método estudado. Portanto a avaliação dos resultados foi baseada no intervalo de confiança ao nível de 95% de probabilidade. Normalmente os valores certificados em amostras padrões são calculados desta forma.

Todos os teores encontrados para os elementos nas amostras estudadas foram descritos na forma do intervalo de confiança. O intervalo de confiança pode ser estimado pela média experimental e o desvio padrão. Os limites desta faixa são conhecidos como o limite de confiança e podem ser calculado pela seguinte equação:

$$\text{limite de confiança} = \bar{x} \pm \frac{t s}{\sqrt{N}}$$

onde: **t** é o fator estatístico que depende do número de graus de liberdade no nível de confiança desejado e é obtido nas tabelas de "t" de "Student", **s** é o desvio padrão e **N** o número de medidas.

Quanto maior o número de medidas, ambos **t** e  $s/\sqrt{N}$  diminuem, portanto o intervalo fica mais estreito. Normalmente o nível de confiança utilizado é de 95% de probabilidade.

## Aplicação do teste "t" às análises de plantas e resíduos

O teste 't' de Student foi também utilizado para avaliar se houve diferenças significativas entre os diferentes procedimentos estudados. Os resultados obtidos para cada elemento em cada método foram comparados aos valores certificados ou aos valores das medianas para as amostras de plantas analisadas.

Para isto foi utilizada a seguinte equação:

$$\pm t = (\bar{x} - \mu) \frac{\sqrt{N}}{s}$$

onde  $\mu$  é o valor verdadeiro, no caso da análise das plantas foi utilizado o valor certificado, quando havia, ou o valor de referência (mediana).

Se o valor de "t" obtido pela equação anterior for **menor** que o valor tabelado para o nível de 95% de probabilidade com N-1 graus de liberdade, diz-se então que não há diferença estatística entre o valor certificado (ou de referência) com o resultado obtido pelo método em estudo, e o resultado fica acompanhado por um asterisco (\*). Se o valor obtido de "t" for ainda menor que o tabelado para o nível de 90% de probabilidade, o resultado passa então a ser acompanhado por dois asteriscos (\*\*).

### **Critérios de rejeição adotados pelo IPE**

O programa de controle de qualidade IPE (International Plant-Analytical Exchange da Universidade de Wageningen na Holanda) foi criado com o objetivo de avaliar a precisão e a exatidão dos procedimentos analíticos utilizados na análise de plantas. Atualmente este programa compreende 234 laboratórios de análise em 67 países.

Os resultados são analisados estatisticamente usando a mediana dos valores e a mediana dos desvios absolutos. Isto porque os dados obtidos por diferentes procedimentos apresentam grandes variações e o emprego da mediana no lugar da média faz com que os valores extremos não influenciem esse valor.

A mediana (med) é a observação que se encontra no meio de um conjunto de observações colocado em ordem, no caso de um número ímpar de dados. Para um número par, faz-se a média entre os números centrais do conjunto. A mediana dos

desvios absolutos (MAD,  $\sigma_1$ ) é a mediana (med) dos desvios absolutos entre um dado ( $x_i$ ) e a mediana do conjunto ( $\mu_1$ ), ou seja:

$$\text{MAD} (\sigma_1) = \text{med} \{ |x_i - \mu_1| \}$$

Um determinado dado é rejeitado quando a fórmula a seguir é aplicada e o resultado é maior que dois. Assim, o critério de rejeição de um determinado resultado ( $x$ ) é dado pela seguinte fórmula:

$$\frac{|(x - \mu_1)|}{(f * \sigma_1)} > 2$$

O fator  $f$ , é calculado para um número  $n$  de determinações, a partir de um distribuição gaussiana, do valor de "t" de Student para  $n-1$  graus de liberdade e é dado aproximadamente pela equação:

$$f = (0,7722 + 1,604/n) * 0,025 * t_{(n-1)}$$

Para os resultados obtidos para os três procedimentos de digestão de amostras de planta pertencentes ao programa IPE, foram aplicados o critério de rejeição com o objetivo de avaliar se os resultados seriam recusados pelo programa.

### Teste de Tukey

Esse teste é baseado na amplitude total "estudentizada" ("studentized range", em inglês), e pode ser utilizada para comparar todo e qualquer contraste entre duas médias de tratamentos. O uso desse teste é bastante simples, principalmente quando o número de repetições é o mesmo para todos os tratamentos.

Para exemplificar serão apresentados os cálculos a partir dos dados obtidos na análise de resíduos para o elemento ferro no lodo de esgoto com todas as repetições em cada método estudado. Os resultados obtidos para cada método com as repetições para o elemento ferro no lodo de esgoto estão apresentadas no quadro A.2 a seguir. Entretanto esse tratamento estatístico foi feito para todos os

elementos em todos os resíduos estudados, usando o programa SANEST de autoria de Zonta e Machado.

Antes de fazer o teste, é necessário conhecer qual o delineamento usado e obter a análise de variância.

O caso em questão pode ser classificado como um delineamento inteiramente ao acaso, pois os dados entre o mesmo método possuem pouca variação, entretanto entre os métodos pode-se observar resultados mais variados. Tem-se portanto três métodos, ou seja três tratamentos, isto indica que se tem:  $3 - 1 = 2$  graus de liberdade (G.L.) para os tratamentos e  $6 \times 3 - 1 = 17$  graus de liberdade; no total, o número seis é devido ao número de repetições em cada método e o três é o número de métodos, ou tratamentos. A diferença entre os graus de liberdade do total e do tratamento correspondem ao resíduo, portanto  $17 - 2 = 15$  graus de liberdade.

**Quadro A.2:** Resultados da concentração de ferro na amostra de lodo de esgoto utilizando os diferentes métodos estudados.

Repetições	Concentração de Ferro no lodo de esgoto		
		(% )	
	Água-régia	EPA-3051	Nítrico-perclórico
1	4,96	4,55	3,88
2	4,95	4,55	3,57
3	4,96	4,63	3,73
4	5,08	4,56	4,08
5	5,07	4,48	3,68
6	4,98	4,51	3,73
<b>Média</b>	<b>5,00</b>	<b>4,55</b>	<b>3,78</b>
<b>Desvio padrão</b>	<b>0,06</b>	<b>0,05</b>	<b>0,18</b>

Com os dados ilustrados no quadro anterior, pode-se calcular a análise de variância, que é fornecida pelo programa SANEST, conforme o exemplo dado na página 129.

Para a análise inicialmente é feito o cálculo da soma dos quadrados, que estão apresentados a seguir:

$$\sum X^2 = 4,96^2 + 4,95^2 + \dots + 3,68^2 + 3,73^2 = 359,878$$

$$\sum X = 4,96 + 4,95 + \dots + 3,68 + 3,73 = 79,95$$

A soma dos quadrados total é :

$$SQ_{total} = \sum X^2 - (\sum X)^2/N \quad \text{onde N é o número total de repetições.}$$

$$SQ_{total} = 359,878 - (79,95)^2 / 18 = 4.7769$$

A soma dos quadrados para tratamentos é:

$$SQ_{trat} = 1/n (\sum x_i^2) - (\sum x)^2/N, \quad \text{onde n é o número de repetições por tratamento}$$

$$SQ_{trat} = 1/6 (30,00^2 + 27,28^2 + 22,67^2) - (79,95)^2/18 = 4,5878$$

A diferença entre a soma dos quadrados total e do tratamento é igual a soma dos quadrados do resíduo, portanto:

$$SQ_{res} = 4,777 - 4,588 = 0.189$$

Através da divisão entre a somas dos quadrados e o número de graus de liberdade pode-se obter o quadrado médio (QM) para os tratamentos e para o resíduo. O quadrado médio é a estimativa da variância ( $\sigma^2$ ):

$$QM = SQ / GL$$

Assim, chega-se ao quadro da análise de variância descrito na página 126, apresentado pelo programa SANEST.

Para facilitar os cálculos foram utilizados na descrição apenas duas casas decimais, no entanto o programa fornece um número de casas decimais bem maior.

Nesse quadro da análise de variância também se observa o valor de F, que é calculado pela divisão do QM do tratamento pelo QM do resíduo. Através das tabelas feitas para o teste F, tem-se que para 2 graus de liberdade (dos tratamentos) e quinze GL (do resíduo) os seguintes valores limites de F: 3,68 para o nível de 5% de probabilidade e 6,36 para 1%. Logo o resultado de F = 181,96, se encontra

totalmente fora dos limites, indicando que não há significância ao nível de 5%, nem ao de 1% de probabilidade.

Para o cálculo do teste de Tukey necessita-se conhecer o valor de  $\Delta$ :

$$\Delta = q \frac{s}{\sqrt{r}}$$

onde  $q$ : é o valor da amplitude total "estudentizada" ao nível de 5% ou 1% de probabilidade;  $s$  é a estimativa do desvio padrão do resíduo e  $r$  é o número de repetições, no mesmo tratamento. O valor de  $q$  pode ser encontrado em tabelas específicas para o teste de Tukey em livros de estatística. Para obter o valor de  $q$  basta procurar na tabela o valor correspondente ao número de tratamentos ( $n$ ) e cruzar com o número de graus de liberdade para o resíduo ( $n'$ ). No caso vertente, tem-se  $n=3$  tratamentos e  $n'=15$  graus de liberdade para o resíduo, portanto na tabela chega-se ao número de  $q = 3,67$  para o nível de 5% de probabilidade e  $q = 4,48$ , para 1%. O desvio padrão do resíduo é calculado através da raiz quadrada do QM do resíduo, isto é:

$$s = \sqrt{0,0126} = 0,112$$

Portanto:

$$\Delta = 3,67 \frac{0,112}{\sqrt{6}} = \mathbf{0,168} \quad \text{para 5\% de probabilidade e,}$$

$$\Delta = 4,48 \frac{0,112}{\sqrt{6}} = \mathbf{0,222} \quad \text{para 1\% de probabilidade}$$

Com as estimativas das médias para cada tratamento, pode-se comparar se são ou não significativamente diferentes entre si, exemplo:

A média do método que envolve a digestão com água-régia (AR) é de 5,00 e para o método EPA (AN), 4,55, então a diferença entre ambos é de 0,45. Esse valor é portanto maior que os dados pelo  $\Delta$ , tanto para 5% como para 1% de probabilidade, isto indica que o método da água-régia é diferente significativamente ao método da EPA. Para mostrar tal diferença as médias são seguidas de letras

diferentes, conforme mostra o quadro do teste de Tukey feito pelo programa SANEST na página 126. O método da água-régia (AR) está seguido da letra a e o da EPA (AN) pela letra b. Na seqüência é feita a comparação entre as médias do método da EPA e do nítrico-perclórico (NP), ou seja  $4,54 - 3,78 = 0,76$ . Esse valor também é maior que o valor de  $\Delta$  para ambos os níveis de probabilidade, indicando que há diferença significativa entre as médias. A letra deve então ser diferente para o método nítrico-perclórico, usa-se então, o valor seguido pela letra c. Se acaso a diferença entre as médias tivesse valor inferior ou igual ao valor de  $\Delta$ , então não haveria diferença significativa no nível em questão, recebendo portanto letras iguais.

Conclui-se portanto que letras diferentes indicam que as médias diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade, na comparação de resultados de ferro entre os métodos de digestão para o lodo de esgoto.

\*\*\*\*\*  
 SANEST - SISTEMA DE ANÁLISE ESTATÍSTICA  
 Autores: Elio Paulo Zonta - Amauri Almeida Machado  
 INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS - I A C - CAMPINAS  
 ANÁLISE DE VARIÁVEL : FERROLODO - ARQUIVO: RESIDUO  
 \*\*\*\*\*

CÓDIGO DO PROJETO:

RESPONSÁVEL: MÔNICA

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL: INTEIRAMENTE CASUALIZADO

OBSERVAÇÕES NÃO TRANSFORMADAS

NOME DOS FATORES

FATOR	NOME
A	MÉTODO

QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA

CAUSAS DE VARIÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
MÉTODO	2	4.58788156	2.2939078	181.9645	0.00001
RESÍDUO	15	0.1890952	0.0126063		
TOTAL	17	4.7769109			

MÉDIA GERAL: 4.442222

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 2.528%

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE MÉTODO

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MÉDIAS	MÉDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	AR	6	5.001667	5.001667	a	A
2	2	AN	6	4.546667	4.546667	b	B
3	3	NP	6	3.778333	3.778333	c	C

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5%= 0.16822 - D.M.S. 1%= 0.22185

---

**Apêndice III**

---

**PROTOCOLO ANALÍTICO**

**ANÁLISE DE BORO EM SOLOS USANDO A SOLUÇÃO  
DE CLORETO DE BÁRIO**

**OBJETIVO**

Avaliar o boro disponível nos solos

**PRINCÍPIO**

Solubilização de boro pelo cloreto de bário a quente

**EXTRAÇÃO****APARATOS**

- cachimbos de PVC de 10 cm<sup>3</sup> de capacidade
- saquinhos de polipropileno (15,5 X 25 cm)
- "clips" de plásticos
- balões de polipropileno capacidade de 1 L
- dispensador tipo garrafa para 10 mL ou 20 mL
- seladora
- forno microondas tipo caseiro, com prato giratório, potência no mínimo 700 W
- prateleira própria para microondas
- tubos de ensaio

**REAGENTES**

- cloreto de bário - BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O
- tolueno
- carvão ativo

**SOLUÇÕES**

- **Solução extratora de cloreto de bário 0,125 %:** dissolver 1,25 g de cloreto de bário e 1 L de água deionizada. Para armazenar essa solução durante alguns meses, adicionar 5 gotas de tolueno.

**PROCEDIMENTO**

- 1- Cachimbar 10 cm<sup>3</sup> de solo em saquinhos de polipropileno
- 2- Adicionar 20 mL da solução extratora (cloreto de bário)
- 3- Adicionar 0,5 cm<sup>3</sup> de carvão ativo somente se a determinação for por espectrofotometria
- 4- Selar os saquinhos
- 5- Fazer um pequeno furo no canto do saquinho com auxílio de um clipe
- 6- Pendurar os saquinhos na prateleira usando "clips". Distribuí-los de forma uniforme e em círculo no sentido do raio
- 7- Colocar a prateleira contendo sempre 14 saquinhos no microondas
- 8- Aquecer no aparelho microondas por um período de 4 minutos na potência máxima (700 W) e 5 minutos na potência média máxima (490 W)
- 9- Esfriar a suspensão por 30 minutos e filtrar imediatamente usando papel de filtro de filtração lenta (faixa azul)

## DETERMINAÇÃO POR ESPECTROFOTOMETRIA

### APARATOS

- espectrofotômetro UV/VIS
- pipetas volumétricas de 2, 4, 5, 10, 15, 20 e 25 mL
- balões volumétricos de 100 e 1000 mL

### REAGENTES

- acetato de amônio
- ácido etilenodiaminotetraacético - EDTA
- ácido acético glacial
- azometina-H
- ácido ascórbico-L
- ácido bórico (grau analítico)-

### SOLUÇÕES

- **Solução tampão:** dissolver 250 g de acetato de amônio e 15 g de EDTA em 400 mL de água deionizada. Adicionar vagarosamente 125 mL de ácido acético glacial.
- **Solução de azometina-H a 0,9% em ácido ascórbico-L:** dissolver 0,9 g de azometina-H em 100 mL de solução 2% de ácido ascórbico-L. Esse reagente pode ser preparado semanalmente e guardado em refrigerador
- **Solução-padrão estoque de 1000 mg L<sup>-1</sup> de B:** dissolver 5,7178 g de ácido bórico (reagente de grau analítico) em água deionizada e completar o volume para 1 L.
- **Intermediária I (40 mg L<sup>-1</sup> de B):** transferir uma alíquota de 4 mL da solução estoque e diluir a 100 mL com a solução de cloreto de bário 0,125%. Estocagem máxima de uma semana.
- **Intermediária II (4 mg L<sup>-1</sup> de B):** transferir uma alíquota de 10 mL da solução intermediária I e diluir a 100 mL com solução de cloreto de bário 0,125%. Preparada diariamente.
- **De trabalho:** transferir os volumes abaixo indicados da solução intermediária II para balões volumétricos de 100 mL e completar o volume com a solução extratora de cloreto de bário.

Padrão	Vol. Int.II (mL)	Concentração de boro	
		no extrato (mg L <sup>-1</sup> )	no solo (mg dm <sup>-3</sup> )
1	2	0,08	0,16
2	5	0,20	0,40
3	10	0,40	0,80
4	15	0,60	1,20
5	20	0,80	1,60
6	25	1,00	2,00

### PROCEDIMENTO

- 1- Transferir uma alíquota de 4 mL do extrato ou de solução-padrão para tubos de ensaio
- 2- Adicionar 1 mL da solução tampão e homogeneizar.
- 3- Juntar 1 mL da solução de azometina-H e agitar manualmente
- 4- Deixar em repouso no escuro por 30 minutos
- 5- Proceder as leituras em um espectrofotômetro a 420 nm

### CÁLCULOS

Concentração de B (mg dm<sup>-3</sup> de solo) = concentração em mg L<sup>-1</sup> X 2

## DETERMINAÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA POR PLASMA (ICP-AES)

### APARATOS

- pipetas volumétricas de 2, 4, 5, 10, 15, 20 e 25 mL
- balões volumétricos de 100 e 1000 mL
- espectrofotômetro de emissão atômica por plasma

### REAGENTES

- ácido bórico (grau analítico)

### SOLUÇÕES

- **Solução-padrão estoque de 1000 mg L<sup>-1</sup> de B:** dissolver 5,7178 g de ácido bórico (reagente de grau analítico) em água deionizada e completar o volume para 1 L.
- **Intermediária I (40 mg L<sup>-1</sup> de B):** transferir uma alíquota de 4 mL da solução estoque e diluir a 100 mL com a solução de cloreto de bário 0,125%. Estocagem máxima de uma semana.
- **Intermediária II (4 mg L<sup>-1</sup> de B):** transferir uma alíquota de 10 mL da solução intermediária I e diluir a 100 mL com solução de cloreto de bário 0,125%. Preparada diariamente.
- **De trabalho:** transferir os volumes abaixo indicados da solução intermediária II para balões volumétricos de 100 mL e completar o volume com a solução extratora de cloreto de bário.

Padrão	Vol Int.II (mL)	Concentração de boro	
		no extrato ( $\text{mg L}^{-1}$ )	no solo ( $\text{mg dm}^{-3}$ )
1	2	0,08	0,16
2	5	0,20	0,40
3	10	0,40	0,80
4	15	0,60	1,20
5	20	0,80	1,60
6	25	1,00	2,00

### PROCEDIMENTO

- Ajustar o espectrômetro para a linha espectral do boro em 208,959 nm
- Usar corretor de fundo
- Fazer a calibração utilizando as soluções-padrão de trabalho e as concentrações equivalentes no solo.
- Determinar a concentração de boro diretamente no filtrado

### CUIDADOS

- Recomenda-se que qualquer modificação introduzida no método deva ser testada previamente comparando os resultados com o método aqui descrito

#### a) material

- Evitar o uso de vidrarias, dando preferência para material de polipropileno
- Caso necessite usar vidrarias para preparo das soluções, procure transferi-las rapidamente para outros frascos plásticos

#### b) extração

- Fazer periodicamente, a cada 6 meses, a calibração do forno microondas
- Usar sempre o mesmo número de saquinhos plásticos por extração, 14. Se existir menos de 14 amostras os demais saquinhos deverão ser completados com 20 mL de água
- Usar a mesma posição para dispor os saquinhos na prateleira
- Se o forno microondas tiver potência maior que 700 W, deve-se avaliar qual a potência e o tempo necessários para a suspensão (solo/solução) iniciar a fervura e então deixar ferver por 5 minutos em uma potência média que deve estar em torno de 490 W

#### c) determinação

- A parte ótica do espectrofotômetro de emissão atômica por plasma deve ser evacuada ou estar sob purga de gás inerte
- Dar preferência para nebulizadores que suportem alto teor salino, par evitar problemas de entupimento
- As demais condições de operação devem ser otimizadas dependendo do tipo e marca do equipamento

### **CALIBRAÇÃO DO FORNO MICROONDAS**

- Colocar 1000 g de água deionizada em um copo de Teflon.
- Medir a temperatura da água, com precisão mínima de 0,1°C. Esta deve estar entre 19 e 25°C.
- Colocar o copo no centro do aparelho de microondas
- Ligar o microondas por exatamente 2 minutos em potência máxima (100%)
- Certificar que o copo permaneça girando no interior do forno durante o aquecimento
- Remover o copo, agitar vigorosamente a água
- Medir novamente a temperatura

### **CÁLCULO DA POTÊNCIA**

$P = (K C_p m \Delta T) / t$  onde,

P= potência aparente absorvida pela amostra, em watts

K= fator de conversão de caloria termoquímica por segundo, a watts (igual a 4,184)

C<sub>p</sub>= capacidade térmica ou calor específico (cal g<sup>-1</sup> °C<sup>-1</sup>) da água (igual 1,0)

m= massa da amostra, em gramas (g)

DT= temperatura final menos a temperatura inicial, em graus Celsius (°C)

t= tempo, em segundos (s)

#### **Exemplo**

Usando t= 2 min e 1000 g de água desionizada a equação pode ser simplificada para:

$$P = 34,87 \Delta T$$

Se as calibrações forem feitas com potência diferente de 100% deve-se fazer correção como segue:

$$P = 100 (34,87) / \text{porcentagem da potência usada}$$

### **REFERÊNCIA**

Abreu, C.A. de; Abreu, M.F. de; Raij, B.van; Bataglia, O.C. & Andrade, J.C.

Extraction of boron from soil by microwave heating for ICP-AES

determination. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 25(19/20):3321-3333, 1994.