

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

CAMILA THIEL

**DETERMINAÇÃO DE MOLIBDÊNIO EM FERTILIZANTES MINERAIS POR
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA**

Porto Alegre, dezembro de 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

CAMILA THIEL

**DETERMINAÇÃO DE MOLIBDÊNIO EM FERTILIZANTES MINERAIS POR
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto à atividade de ensino “Projeto Tecnológico” do Curso de Química Industrial como requisito parcial para a obtenção do grau de Químico Industrial.

Prof^ª. Dr^ª. Dirce Pozebon

Orientadora

Dr. Jéferson Segalin

Coorientador

Porto Alegre, dezembro de 2018

Agradeço ao meu companheiro Edson pela paciência, pelo apoio e suporte nos meus momentos mais difíceis, à minha Orientadora Dirce pela compreensão e ajuda na realização desse trabalho, ao meu Coorientador Jéferson pela paciência em me ensinar, me instruir, pelo apoio e suporte em tudo que foi necessário para a realização desse trabalho, aos técnicos Graciane e Lucas pela parceria, ensinamentos e ajuda na realização dos experimentos, ao LANAGRO por disponibilizar o laboratório, à UFRGS pela realização de um sonho, e aos meus estimados pais que me deram todo o suporte necessário.

“Triste época! É mais fácil
desintegrar um átomo do
que um preconceito.”

(Albert Einstein)

RESUMO

O molibdênio (Mo) é essencial para a fixação de nitrogênio e assimilação de nitrato, sendo assim, é um mineral indispensável às plantas. Está presente em baixa concentração nos fertilizantes e, em alguns casos, o Mo está presente abaixo da concentração mínima determinada pela legislação. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) fiscaliza as concentrações máximas e mínimas permitidas para vários elementos químicos em fertilizante, incluindo o Mo, cabendo aos Laboratórios Nacionais Agropecuários (LANAGROs) a realização das análises para fins de fiscalização. O método de referência atual é baseado na espectrometria de absorção molecular no visível, mediante reação com tiocianato de sódio. Entretanto, demanda elevado tempo de análise, maior consumo de reagentes e de mão de obra. No presente trabalho, fez-se a confirmação de desempenho de um método para determinação de Mo em fertilizante mineral mediante a espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS). Foram avaliadas as figuras de mérito requeridas na validação de metodologia; linearidade, seletividade, limite de quantificação, limite de detecção, exatidão e precisão. Confirmou-se o desempenho do método proposto e a equivalência do mesmo com o método oficial. Contudo, o método proposto pode ser mais facilmente implementado pelos laboratórios em análises rotineiras de fertilizantes.

Palavra-Chave: molibdênio, fertilizantes minerais, FAAS, micronutrientes em fertilizantes

ABSTRACT

Molybdenum (Mo) is essential for nitrogen fixation and nitrate assimilation, so it is an indispensable mineral for plants. It is present in low concentration in mineral fertilizers and in some cases, Mo is present below the minimum concentration determined by the current Brazilian legislation. The Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA) supervises the maximum and minimum concentrations allowed for several chemical elements in fertilizer, including Mo, and it is the responsibility of the National Agricultural Laboratories (LANAGROs) to carry out the analyzes for inspection purposes. The current reference method is based on molecular absorption spectrometry in the visible region, by reaction with sodium thiocyanate. However, such method demands high analysis time, greater consumption of reagents and labor. In the present work, the performance of a method for the determination of Mo in mineral fertilizer by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) was confirmed. The figures of merit required in the validation of the methodology were evaluated, including limit of quantification, limit of detection, accuracy and precision. The performance of the proposed method and its equivalence to the official method were confirmed. However, the proposed method can be more easily implemented by laboratories for routine fertilizer analyzes.

Keyword: molybdenum, mineral fertilizer, FAAS, fertilizer micronutrients

LISTA DE ABREVIACÕES

ANDA – Associação Nacional para Difusão de Adubos

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FAAS – Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectrometry*)

HCL - Lâmpada de Cátodo Oco (do inglês, *hollow-cathode lamp*)

IN – Instrução Normativa

LAFC – Laboratório de Análise de Fertilizantes e Corretivos

LANAGRO – Laboratório Nacional Agropecuário

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

MRC – Material de Referência Certificado

NIST - *National Institute of Standards and Technology*

VIM – Vocabulário Internacional de Metrologia

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Esquema geral de um espectrômetro de absorção atômica com chama e seu sistema nebulizador-queimador.....15
- Figura 2 - Curva de calibração do Mo obtida por FAAS.....24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tolerâncias admitidas em relação às garantias dos produtos.....	13
Tabela 2. Avaliação da linearidade na determinação de Mo por FAAS.....	24
Tabela 3. Resultados obtidos na determinação de Mo em fertilizante mineral por FAAS	25
Tabela 4. Resultados reportados pelos laboratórios participantes do ensaio interlaboratorial e avaliação dos resultados na determinação de Mo por FAAS. A concentração de Mo é expressa em %.....	26
Tabela 5. Resultados obtidos por diferentes analistas na determinação de Mo numa amostra de fertilizante mineral por FAAS.....	27
Tabela 6. Aplicação do teste F aos resultados obtidos pelos dois analistas, conforme a Tabela 5.....	27
Tabela 7. Aplicação do teste t- <i>Student</i> aos resultados obtidos pelos dois analistas, conforme a Tabela 5.....	28
Tabela 8. Resultados obtidos na determinação de Mo nos brancos analíticos por FAAS.....	28
Tabela 9. Concentrações de Mo encontradas por absorção molecular no visível (VIS) e absorção atômica em chama (FAAS)	29
Tabela 10. Aplicação do teste F aos resultados obtidos pelos dois métodos, conforme a Tabela 9.....	30
Tabela 11. Aplicação do teste t- <i>Student</i> aos resultados obtidos pelos dois métodos, conforme a Tabela 9.....	30
Tabela 12. Resultados reportados pelos laboratórios participantes do ensaio interlaboratorial e avaliação dos resultados na determinação de Mo por espectrofotometria. A concentração de Mo é expressa em %.....	31
Tabela 13. Comparação dos resultados obtidos no ensaio interlaboratorial com aqueles obtidos no presente trabalho, por espectrofotometria, conforme as Tabelas 9 e 12	32
Tabela 14. Comparação dos resultados obtidos no ensaio interlaboratorial com aqueles obtidos no presente trabalho, por FAAS, conforme as Tabelas 3 e 4.....	32
Tabela 15. Custo comparativo de materiais e reagentes utilizados na determinação de Mo por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e espectrometria de absorção molecular no visível (método espectrofotométrico).....	33
Tabela 16. Custo comparativo para a análise de 10 amostras de fertilizante mineral por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e espectrometria de absorção molecular no visível (método espectrofotométrico).....	34

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 FERTILIZANTES MINERAIS.....	12
2.2 DETERMINAÇÃO DE MOLIBDÊNIO EM FERTILIZANTES MINERAIS.....	13
2.3 MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO.....	13
2.4 MÉTODO BASEADO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA.....	14
2.5 VALIDAÇÃO DO MÉTODO E CONFIRMAÇÃO DE DESEMPENHO.....	15
3. OBJETIVO GERAL.....	18
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
4. PROPOSTA TECNOLÓGICA.....	19
5. METODOLOGIA.....	20
5.1 MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E REAGENTES.....	20
5.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES E AMOSTRAS.....	20
5.2.1 Preparo das Soluções.....	21
5.2.2 Preparo da Amostra de Fertilizante.....	21
5.2.2.1 Determinação de Molibdênio por Espectrofotometria.....	22
5.2.2.2 Determinação de Molibdênio por Absorção Atômica.....	22
5.3 VALIDAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CONFIRMAÇÃO.....	23
5.3.1 Precisão e Exatidão.....	23
5.3.2 Limites de Detecção e Quantificação.....	23
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
6.1 AVALIAÇÃO DO MÉTODO.....	24
6.1.1 LINEARIDADE.....	24
6.1.2 EXATIDÃO E PRECISÃO.....	25
6.1.3 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO.....	28
6.2 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PELOS DIFERENTES MÉTODOS.....	29
6.3 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS NO ENSAIO INTERLABORATORIAL PARA AS DUAS METODOLOGIAS.....	31
7. AVALIAÇÃO DE CUSTOS.....	33
8. CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

1. INTRODUÇÃO

O molibdênio (Mo) é um elemento encontrado em toda a crosta terrestre, principalmente em solos provenientes de rochas sedimentares (Bataglia et al., 1976). Porém, sua concentração no solo é sempre baixa, excedendo 0,04% somente em depósitos marinhos (Gupta & Lipsett, 1981). Por causa de sua baixa concentração nos solos e utilização sem a devida reposição, o Mo tem-se esgotado, tornando-se comum a sua deficiência, principalmente, nos solos de cerrado (Sfredo et al., 1994, 1997). Por participar da estrutura e ser ativador de diversas enzimas, o Mo é de fundamental importância a todos os vegetais. Com o surgimento do problema de deficiência de Mo no solo, tornou-se necessário fornecê-lo às plantas através da adubação mineral. As principais fontes de Mo são o molibdato de sódio, molibdato de amônio, ácido molíbdico e trióxido de Mo.

Atualmente, existem, no mercado, diversos produtos comerciais fornecedores de micronutrientes, com as mais variadas formulações. No entanto, ocorre o fornecimento de fertilizantes com um conteúdo de nutrientes inferior ao declarado no rótulo. No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é o órgão regulador e fiscalizador da produção e do comércio de fertilizantes destinados à agricultura.

O Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos recomenda o uso da espectrometria atômica para a determinação de diversos elementos, no entanto o Laboratório de Análises de Fertilizantes e Corretivos (LAFV), um dos laboratórios oficiais do MAPA, utiliza a técnica de espectrometria de absorção molecular na região do visível para determinação de Mo. Sendo assim, o presente trabalho avaliará a possibilidade de implementação da técnica de espectrometria de absorção atômica para determinação de Mo em fertilizantes minerais, a fim de implementar a mesma nas análises laboratoriais. Para isso, serão avaliadas as figuras de mérito, tais como: limites de quantificação e detecção, exatidão e precisão. Após, os resultados obtidos pelo presente trabalho serão comparados com ensaios interlaboratoriais realizado pelo LANAGRO. Além disso, será avaliado os custos de implementação da metodologia proposta e os custos de análises, assim como, a comparação destes com a metodologia de referência utilizada atualmente.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FERTILIZANTES MINERAIS

A utilização de fertilizantes minerais se dá a nível mundial, os quais são indispensáveis para o rendimento dos produtos agrícolas cultivados. Os fertilizantes minerais constituem-se basicamente de macronutrientes primários, como o nitrogênio, fósforo e potássio, macronutrientes secundários, como cálcio, enxofre e magnésio, além de micronutrientes como o cobre, ferro, molibdênio e zinco¹. Atualmente, no mundo são consumidos a cada ano cerca de 34.083.415 toneladas de fertilizantes minerais, segundo a Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA)².

No Brasil, o órgão que estabelece os limites máximos e mínimos de macro e/ou micronutrientes em fertilizantes minerais é o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)³. Os Laboratórios Nacionais Agropecuários (LANAGROs) são os laboratórios oficiais do MAPA, com atribuições de realizar análises oficiais; atuar como referência nacional em assuntos laboratoriais; realizar auditoria em laboratórios credenciados; pesquisar, desenvolver e melhorar métodos analíticos; atuar como centro regional de difusão de tecnologia e experiências; realizar estudos e manter um banco de material de referência³. Sendo assim, os LANAGROs atuam no processo fiscalizatório da qualidade dos fertilizantes, a fim de garantir aos produtores rurais segurança na aquisição dos mesmos, bem como, garantir a conformidade entre as informações presentes nos rótulos com as concentrações de nutrientes no produto.

Nem todos os tipos de fertilizantes possuem Mo em sua composição, para aqueles que o contém, faz-se necessário que a garantia mínima não seja inferior a 0,05%, segundo a Instrução Normativa (IN) n° 46, de 22 de novembro de 2016 do MAPA¹. Nesta IN, tem-se também estabelecidas as concentrações de outros elementos, incluindo macronutrientes e micronutrientes. Em virtude disso, o desenvolvimento e aprimoramento de metodologias de modo a atender o cumprimento da referida IN são imprescindíveis na etapa do processo fiscalizatório, sob responsabilidade dos LANAGROs.

Segundo a IN N° 39, de 8 de agosto de 2018, admite-se tolerâncias para as concentrações de nutrientes, que estão relacionadas com a garantia do produto, as quais podem ser observadas na Tabela 1. Por exemplo, se a garantia do Mo for 0,05%, o produto precisará ter uma concentração mínima de 0,035 de Mo para ser considerado conforme.

Tabela 1. Tolerâncias admitidas em relação às garantias dos produtos.

Teores Garantidos (Tg), %	Tolerância (T) para Fertilizantes Minerais Simples e Complexos	Tolerância (T) para Fertilizantes Minerais Mistos
Até 0,1	25%	30%
Acima de 0,1 até 1	20%	25%
Acima de 1 até 5	$T_{(p.p)}^* = (0,1375 \times Tg) + 0,0625$	$T_{(p.p)}^* = (0,1875 \times Tg) + 0,0625$
Acima de 5 até 10	$T_{(p.p)}^* = (0,0500 \times Tg) + 0,5000$	$T_{(p.p)}^* = (0,0500 \times Tg) + 0,7500$
Acima de 10 até 40	$T_{(p.p)}^* = (0,0333 \times Tg) + 0,6667$	$T_{(p.p)}^* = (0,0417 \times Tg) + 0,8333$
Acima de 40	2 p.p.**	2,5 p.p.**

* $T_{(p.p)}$: Tolerância em pontos percentuais

**p.p: pontos percentuais

2.2 DETERMINAÇÃO DE MOLIBDÊNIO EM FERTILIZANTES MINERAIS

Atualmente, o Laboratório de Análises de Fertilizantes e Corretivos (L AFC) do LANAGRO/RS utiliza método espectrofotométrico para a determinação de Mo em fertilizantes, mediante reação do elemento com tiocianato de sódio. No entanto, esse método é consideravelmente moroso, com expressivo consumo de reagentes, incluindo o ácido perclórico (HClO_4), o qual é considerado de risco.

No Manual⁴ de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos está descrita a determinação de Mo por espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS), entretanto esse método ainda não teve seu desempenho confirmado para ser utilizado no L AFC. Desse modo, o presente projeto visa à confirmação de desempenho da metodologia de análise por FAAS para a determinação de Mo em fertilizantes minerais. Além disso, tem como objetivo realizar um estudo comparativo entre duas metodologias para determinação de molibdênio; o método espectrométrico por absorção atômica em chama (FAAS) e o método espectrofotométrico por absorção molecular, que é atualmente o método oficial de referência.

2.3 MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

A espectrofotometria de absorção molecular nas regiões ultravioleta e visível é uma técnica baseada na interação da radiação eletromagnética com a matéria, possibilitando a análise quantitativa. Tem como principal característica a grande aplicabilidade em sistemas orgânicos e inorgânicos, com limites de detecção entre 10^{-4} a 10^{-5} M, com seletividade moderada a alta e boa exatidão. Existe uma grande quantidade de agentes complexantes que podem ser utilizados na determinação de espécies inorgânicas⁵.

No caso da determinação de Mo em fertilizante mineral por espectrofotometria de absorção molecular, o Mo em solução ácida é convertido a Mo(V) pelo cloreto estânico (SnCl_2 ,

agente redutor) em presença de ferro. O Mo(V) forma com o íon tiocianato (SCN^-) o complexo $\text{Mo}(\text{SCN})_5$, de coloração avermelhada, que absorve em 460 nm. Assim, na quantificação do elemento, o Mo presente em soluções de calibração e amostra é complexado com o SCN^- e a absorvância do complexo é medida em 460 nm.

2.4 MÉTODO BASEADO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA

A espectrometria de absorção atômica é uma técnica analítica que mede as concentrações dos elementos. Baseia-se na absorção da radiação eletromagnética nas regiões ultravioleta e visível por átomos no estado fundamental e na forma de vapor, havendo a passagem de elétrons em camadas externas do átomo para nível de energia superior. A radiação eletromagnética excita os átomos do analito e a energia assim consumida é medida, ou seja, mede-se a atenuação da radiação eletromagnética como consequência da absorção atômica.

Um espectrômetro de absorção atômica é basicamente composto por uma fonte de radiação, um sistema de introdução da amostra num atomizador, um monocromador e um detector/processador do sinal (Figura 1). Comumente, como fonte de radiação é utilizada uma lâmpada de cátodo oco (HCL), a qual é preenchida com um gás inerte e contém um cátodo que é uma liga metálica do analito. O gás inerte ao ser ionizado arranca átomos do cátodo e esses átomos arrancados são excitados ao se chocarem com outros íons do gás inerte. Como o tempo de vida do átomo no estado excitado é muito curto, ele retorna ao estado fundamental e emite radiação específica do elemento que está sendo determinado (analito). No atomizador, os átomos do analito, que se encontram no estado fundamental e na forma de vapor, absorvem a radiação emitida pela HCL, cuja quantidade absorvida é medida na forma de absorvância. Um monocromador é utilizado para selecionar o comprimento de onda de interesse. Então, a radiação selecionada chega a um detector que produz um sinal elétrico proporcional à intensidade da radiação incidente⁶.

Na FAAS o atomizador é uma chama produzida a partir da combustão de gases num queimador. Usualmente, a chama é produzida a partir de ar-acetileno (temperatura em torno de 2600 °C) e óxido nitroso-acetileno (temperatura próxima a 3000 °C). Certos elementos (por exemplo, Mo, Ca, Cr, Ti e V) são mais difíceis de serem atomizados porque tendem a formar óxidos. Nesse caso, a chama óxido nitroso-acetileno é mais adequada. Caso a chama não seja suficientemente quente, apenas uma pequena fração dos átomos do metal serão excitados e o restante permanecerá no estado fundamental. A amostra na forma de solução (a amostra sólida, como no caso do fertilizante, deve ser decomposta ou extraída de modo a se obter uma solução

que contenha o analito) é introduzida no atomizador. Para tanto, é utilizado um nebulizador, o qual converte a solução da amostra em gotículas antes destas serem introduzidas na chama. As gotas são selecionadas numa câmara de nebulização e somente aquelas com tamanho adequado chegam até a chama.

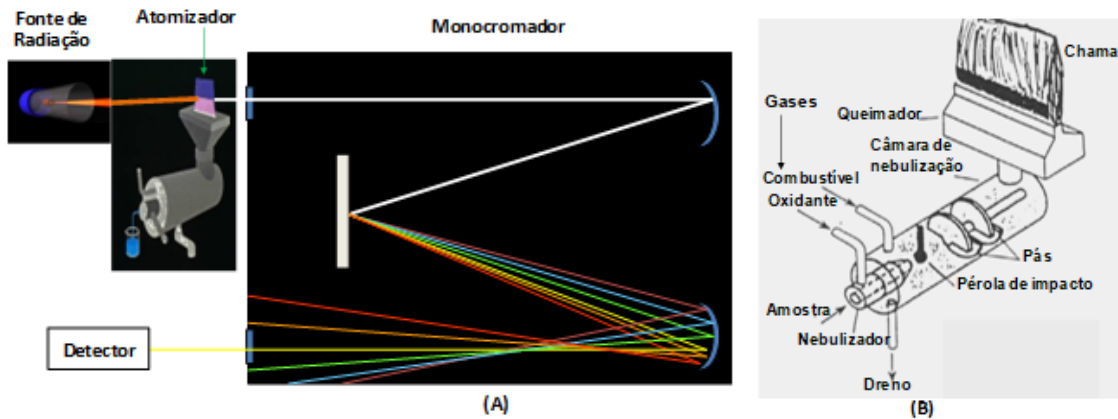


Figura 1. Esquema geral de um espectrômetro de absorção atômica com chama (A) e seu sistema nebulizador-queimador (B).

2.5 VALIDAÇÃO DO MÉTODO E CONFIRMAÇÃO DE DESEMPENHO

A validação de um método analítico é uma avaliação sistemática por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido são atendidos. A validação deve demonstrar que o método analítico possibilita a obtenção de resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se destina, de forma documentada e mediante critérios objetivos⁷.

A ISO/IEC 17025:2005⁸ destaca os parâmetros a serem seguidos na validação de métodos analíticos. Apesar de esta validação ser aplicada para métodos não normalizados, a verificação/confirmação de desempenho dos métodos normalizados também é obrigatória, pois segundo o item 5.4.2 da mesma ISO, é necessária a confirmação de que o laboratório tem condição de operar adequadamente métodos normalizados antes de implantar os ensaios, as análises ou as calibrações. Na validação devem ser analisados materiais de referência certificados (MRC), produzidos por instituições acreditadas e, caso os materiais/padrões certificados não estejam disponíveis, podem ainda ser empregados materiais de referência internos, amostras fortificadas ou ainda amostras onde as concentrações dos analitos já são conhecidas⁹.

Em se tratando de método normalizado, é necessária a verificação de desempenho e, desta maneira, devem ser avaliados os parâmetros de validação na extensão necessária, com o intuito de demonstrar que os procedimentos preconizados atendem aos critérios de aceitação estabelecidos no manual de validação e verificação/confirmação de desempenho¹⁰.

Os parâmetros de validação requeridos como evidência objetiva, conforme descritos por Albano e Raya-Rodriguez¹¹, são: seletividade, linearidade, sensibilidade (limites de detecção e quantificação), precisão (repetibilidade e reprodutibilidade) e exatidão (percentual de recuperação e/ou *z-score* interlaboratorial).

A seletividade é a extensão na qual um método analítico permite que se possa determinar um analito em misturas ou matrizes sem a interferência de outros componentes de comportamento semelhante¹². O estudo da seletividade envolve ensaios com padrões ou materiais de referência, amostras com e sem o analito, além da avaliação da capacidade de identificação do analito na presença de interferentes. Quando não há potenciais interferentes, alguns autores definem seletividade como a avaliação da habilidade de medição do analito por diferentes métodos ou técnicas, ou mediante variação das condições instrumentais¹².

A linearidade é a capacidade de um método analítico em produzir sinal que seja diretamente proporcional à concentração do analito na amostra em uma dada faixa de concentração. A faixa de trabalho compreende as concentrações em que a linearidade for atingida, definindo-se assim, a curva de calibração correspondente¹². Para a avaliação da linearidade, primeiramente deve ser definida a faixa de trabalho, que compreende a faixa de concentração onde a concentração do analito estará incluída. Então, a linearidade é verificada mediante expressão matemática por meio da equação de regressão linear, a qual é posteriormente utilizada para o cálculo da concentração do analito na amostra. O coeficiente de correlação (r) é um indicador da interdependência entre o sinal medido e as concentrações das respectivas soluções de calibração. No entanto, o coeficiente de determinação (r^2), é que deve ser utilizado para adequar um modelo linear aos valores experimentais¹³.

O limite de detecção (LD) é definido como a concentração mínima de uma substância medida e declarada com 95% ou 99% de confiança de que a mesma é maior que zero¹².

O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de exatidão e precisão. O LQ pode corresponder à solução de calibração de menor concentração possível utilizada na obtenção da curva de calibração¹².

A precisão é a dispersão de resultados entre medidas independentes para uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. É expressa por meio da repetibilidade e reprodutibilidade. Repetitividade é o grau de concordância entre os resultados

de medições sucessivas de um mesmo mensurando, efetuadas sob as mesmas condições de medição e a reprodutibilidade é o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo mensurando, efetuadas sob condições variadas de medição¹².

A exatidão é a concordância entre o resultado obtido em um ensaio ou análise e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. Para avaliar a exatidão de um método analisam-se materiais de referência certificados, participa-se em programas interlaboratoriais e fazem-se ensaios de recuperação do analito¹².

Na confirmação de desempenho os parâmetros avaliados são reduzidos, ou seja, não engloba todas as figuras de mérito citadas anteriormente, pois, nesse caso, busca-se comprovar que o laboratório possui condições de reproduzir um método bem estabelecido, já descrito em normas nacionais ou internacionais. Na confirmação de desempenho geralmente avalia-se a repetibilidade, a reprodutibilidade e a exatidão, no entanto, mais parâmetros também podem ser avaliados.

Neste trabalho serão avaliados os limites de quantificação e detecção, exatidão e precisão.

3. OBJETIVO GERAL

O trabalho tem como objetivo a confirmação de desempenho do método de determinação de molibdênio em fertilizante mineral por FAAS e compará-lo com o método espectrofotométrico, que é o método de referência atual.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliação das figuras de mérito necessárias ao processo de validação/confirmação de metodologia, afim de implementar a mesma no escopo do laboratório: limite de quantificação, limite de detecção, exatidão e precisão (repetibilidade e reprodutibilidade).
- Avaliação dos parâmetros mediante análise de material de referência certificado e comparação dos resultados obtidos com os de ensaio interlaboratorial, realizado pelo LANAGRO.
- Comparação dos resultados obtidos através do método do qual fez-se a confirmação e o método oficial, comparando-se custo de análise, tempo de análise, geração de resíduos, quantidade de reagentes, equipamentos e mão de obra.

4. PROPOSTA TECNOLÓGICA

Este trabalho apresenta como proposta tecnológica a confirmação de uma metodologia mais rápida, de custo menor e com menor geração de resíduo, em comparação à metodologia oficial, para a determinação de molibdênio em fertilizantes minerais.

Os resultados obtidos serão utilizados para implantação da metodologia nos laboratórios de análise de fertilizantes do LANAGRO, o qual poderá também servir de base para outros laboratórios, inclusive aqueles credenciados junto ao LANAGRO.

5. METODOLOGIA

5.1 MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E REAGENTES

Foram utilizados reagentes de grau analítico e água purificada (com condutividade de 0,05 $\mu\text{S}/\text{cm}$) através de um purificador de água de marca Gehaka, modelo Master All MS2000. Essa água foi utilizada para preparação das soluções e amostras. Para a pesagem das amostras e reagentes, foi utilizada balança analítica da marca Marte, modelo AY220. Todos os recipientes volumétricos de vidro utilizados estavam calibrados.

Os reagentes utilizados foram: ácido clorídrico 37% (m/m) (HCl – CAS N° 7647-01-0, Alphatec); cloreto de alumínio hexahidratado ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – CAS N° 7784-13-6, Dinâmica); cloreto estano (SnCl₂ – CAS N° 7772-99-8, Neon); ácido Sulfúrico 96% (m/m) (H_2SO_4 – CAS N° 7664-93-9, Panreac); ácido perclórico 70% (m/m) (HClO_4 – CAS N° 7601-90-3, Cromoline); sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ – CAS N° 15244-10-7, Vetec) e tiocianato de sódio com pureza mínima de 98% (NaSCN – CAS N° 5401-72-7, Fluka).

Para preparar a curva de calibração foi utilizada solução de molibdênio 1000 mg L⁻¹ (CAS N° 7439-98-7, da VHG Labs).

Uma amostra de fertilizante mineral, analisada conforme programa de comparações interlaboratoriais da rede LANAGRO, codificada como 14326/2016, foi utilizada para realizar a confirmação de desempenho do método de determinação de molibdênio.

Para a determinação de molibdênio por FAAS foi utilizado um espectrômetro da marca PerkinElmer, modelo AAnalyst 200, com lâmpada de cátodo oco de molibdênio. A absorvância do molibdênio foi medida em 313,3 nm. A fenda do monocromador (2,7/0,8 mm) e a vazão dos gases foram fixadas conforme recomendação do fabricante do equipamento. As vazões do óxido nitroso e acetileno foram 6,0 L min⁻¹ e 7,5 L min⁻¹, respectivamente.

Para a determinação do molibdênio por espectrometria de absorção molecular foi utilizado um espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo UV 1800, onde a absorvância foi medida em 460 nm.

5.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES E AMOSTRAS

A preparação de amostras e soluções foi realizada conforme o Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos (IN MAPA/SDA n° 03/2015).

5.2.1 PREPARO DAS SOLUÇÕES

- Solução de SnCl_2 100 g L^{-1} . Pesou-se 10 g de SnCl_2 em copo de becker, adicionou-se 40 mL de HCl 1+1 (20 mL de HCl concentrado mais 20 mL de água), ferveu-se a mistura em chapa aquecedora até completa dissolução do reagente e completou-se o volume até 100 mL com água ultrapura;
- Solução de NaSCN 100 g L^{-1} . Pesou-se 25 g do reagente, dissolveu-se em água e em seguida avolumou-se a 250 mL mediante adição de água;
- Solução de Sulfato férrico 50 g L^{-1} . Dissolveu-se 12,5 g de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ em água, adicionou-se 25 mL de H_2SO_4 1+1 (12,5 mL de H_2SO_4 concentrado + 12,5 mL de água) e avolumou-se a 250 mL mediante adição de água;
- Solução padrão estoque de Mo 25 mg L^{-1} . Transferiu-se 2,5 mL da solução de Mo 1000 mg L^{-1} para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água;
- Solução estoque de Mo 50 mg L^{-1} . Transferiu-se 25 mL da solução de Mo 1000 mg L^{-1} para balão volumétrico de 500 mL, adicionou-se 200 mL de água e 20 mL de HCl concentrado e completou-se o volume com água. Esta solução foi armazenada em frasco escuro;
- Solução de cloreto de alumínio 10 g L^{-1} . Dissolveu-se 44,72 g de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em água, transferiu-se para balão volumétrico de 500 mL e avolumou-se com água.

5.2.2 PREPARO DA AMOSTRA DE FERTILIZANTE

A amostra fornecida já estava moída, sendo que todo o procedimento de moagem havia sido realizado conforme o manual dos ensaios de proficiência da rede LANAGRO. Alíquotas da amostra moída foram posteriormente tratadas como segue: a 1 g da amostra, exatamente pesado, foram adicionados 10 mL de HCl concentrado e a mistura levada à fervura em chapa aquecedora, até próximo a secura. O resíduo obtido foi dissolvido com 20 mL de solução de HCl (1+5) e a solução foi fervida por mais 10 min. Após resfriada, a solução foi transferida para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água. A solução final foi filtrada em papel filtro de porosidade média ou baixa. Foram preparadas 8 réplicas da amostra. Para estimar o LD e LQ do método baseado na FAAS foram preparadas 7 réplicas do branco, sendo os reagentes submetidos ao mesmo tratamento dado à amostra.

5.2.2.1 DETERMINAÇÃO DE MOLIBDÊNIO POR ESPECTROFOTOMETRIA

Após completado o volume a 100 mL na etapa de extração da amostra, o filtrado foi diluído de acordo com a massa pesada e concentração do analito na amostra, transferindo-se 3 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, onde foram adicionados 10 mL de água, 1 mL de solução de H_2SO_4 50% (v/v) em água, 1 mL de HClO_4 concentrado e 0,5 mL de solução de sulfato férrico 50 g L^{-1} . Após 5 min de repouso, adicionou-se, lentamente e sob agitação, 4 mL de solução de NaSCN 100 g L^{-1} , deixando-se a solução em repouso por mais 5 min. Por fim, adicionou-se 2,5 mL de solução de SnCl_2 100 g L^{-1} e após mais 5 minutos de repouso o volume da solução foi completado a 25 mL, com água. Em paralelo, foram preparadas as soluções de calibração em balões volumétricos de 25 mL, sendo os reagentes adicionados da mesma forma às soluções de calibração e amostra. A concentração de molibdênio nas soluções de calibração foi 0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L^{-1} , as quais foram preparadas a partir de diluição da solução estoque contendo 25 mg L^{-1} do elemento. Para o desenvolvimento da cor, todas as soluções foram deixadas em repouso por 1h. Em seguida, a absorvância foi medida em 460 nm, em cubeta com 1 cm de caminho óptico.

5.2.2.2 DETERMINAÇÃO DE MOLIBDÊNIO POR ABSORÇÃO ATÔMICA

O filtrado foi diluído de modo a situar a concentração de molibdênio na faixa de concentração da curva de calibração. Sendo assim, foram transferidos 15 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, onde se adicionou 2,5 mL de solução de cloreto de alumínio 10 g L^{-1} e água para completar o volume do balão. A adição de cloreto de alumínio à solução tem como objetivo evitar a formação de óxidos, a fim de evitar interferências no valor de absorção. O alumínio desloca o oxigênio que estaria ligado ao M, pois forma preferencialmente Al_2O_3 , deixando o Mo livre para ser atomizado.

Em paralelo, foram preparadas as soluções de calibração, estas contendo 0,0; 5,0; 10; 20 e 25 mg L^{-1} de Mo e 5 mL da solução de cloreto de alumínio 10 g L^{-1} . Estas soluções foram preparadas em balões volumétricos de 50 mL, a partir da solução estoque com 50 mg L^{-1} de molibdênio. Todas as soluções de calibração foram preparadas em triplicata. A solução referente ao ponto 0,0 serviu como branco. A absorvância do Mo nas soluções foi medida em 313,3 nm, em chama óxido nitroso/acetileno.

5.3 VALIDAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CONFIRMAÇÃO

Para a confirmação do desempenho do método, foram avaliados a precisão (repetibilidade e reprodutibilidade), exatidão e os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ).

5.3.1 PRECISÃO E EXATIDÃO

Para a verificação da exatidão, 8 réplicas da amostra de referência (provinda de ensaio interlaboratorial) foram analisadas por FAAS. A partir dos resultados obtidos foi realizado o teste *z-score* através de comparação com os resultados encontrados no ensaio interlaboratorial. Também foi avaliada a precisão intermediária, que consiste no grau de concordância entre os resultados obtidos em condições operacionais diferentes (analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes e/ou medições em dias diferentes). No presente trabalho, para avaliação da precisão intermediária, as medições foram conduzidas por diferentes analistas.

Para verificar a presença de valores extremos de concentração, aplicou-se o teste de Grubbs^{14, 15}, e no caso de haver *outliers*, estes foram excluídos.

Os testes *z-score*, F (Fisher-Snedecor) e *t-Student* foram realizados mediante a ferramenta de Análise de Dados Microsoft Office Excel^{®14, 16, 17}.

5.3.2 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Para estimar o LD e o LQ utilizou-se as equações 1 e 2¹⁸:

$$LD = b + 3\sigma_{br} \quad (\text{eq. 1})$$

$$LQ = b + 10\sigma_{br} \quad (\text{eq. 2})$$

Sendo a variável σ_{br} o desvio padrão dos valores de concentração do analito encontrada nas réplicas do branco e b a média dos valores de concentração.

Como abordagem mais realista, o Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO) recomenda a adoção da solução de calibração de menor concentração possível utilizada para a construção da curva de calibração, como o verdadeiro limite de quantificação do método¹². No entanto, optou-se por utilizar as equações 1 e 2, por ser uma abordagem bem conhecida e bastante aceita.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 AVALIAÇÃO DO MÉTODO

6.1.1. LINEARIDADE

O intervalo de concentração da curva de calibração foi de 0,0 a 25 mg L⁻¹, sendo que a solução do branco foi utilizada apenas para ajuste do zero no espectrômetro de absorção atômica. As absorbâncias medidas no estudo da linearidade são citadas na Tabela 2; esse estudo tem como objetivo verificar se o r^2 era satisfatório, pois a linearidade já está bem definida no Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos⁴ que descreve a metodologia.

Tabela 2. Avaliação da linearidade na determinação de Mo por FAAS.

Concentração	
Mo (mg L ⁻¹)	Absorbância
0,0	0,002
5,0	0,012
10,0	0,019
20,0	0,041
25,0	0,047

A partir dos dados citados na Tabela 2 construiu-se o gráfico representado na Figura 2, e verificou-se que o coeficiente de determinação foi satisfatório.

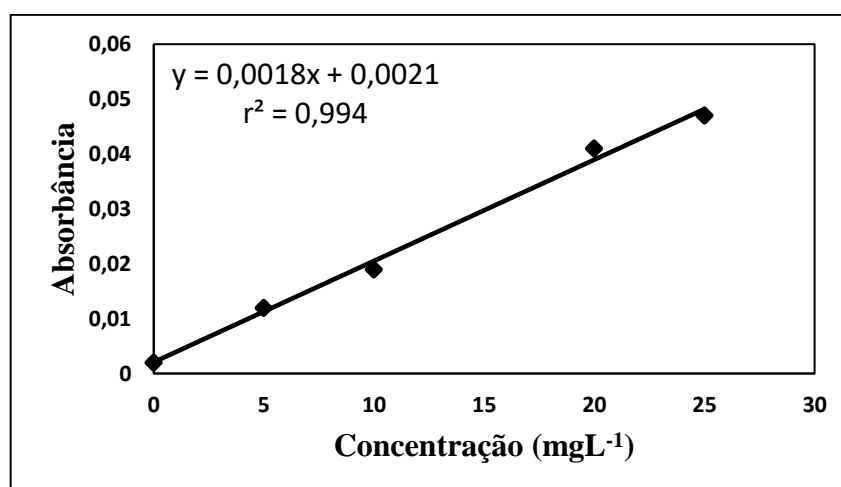


Figura 2. Curva de calibração do Mo obtida por FAAS

6.1.2. EXATIDÃO E PRECISÃO

Para avaliar a exatidão do método, foi analisado um material de referência de fertilizante mineral da rede LANAGRO. Os resultados obtidos na análise são apresentados na Tabela 3, onde é informada também a concentração média segundo o ensaio interlaboratorial da rede LANAGRO e o valor calculado do *z-score*.

Tabela 3. Resultados obtidos na determinação de Mo em fertilizante mineral por FAAS.

Replicata	Concentração de Mo* (mgL ⁻¹)	Concentração de Mo** (%)
1	11,88	0,196
2	11,95	0,198
3	11,87	0,196
4	12,01	0,198
5	11,81	0,195
6	12,00	0,198
7	12,16	0,201
8	11,88	0,196
Média	-	0,197
Desvio padrão	-	0,00191
Interlaboratorial	Média = 0,207%	Desvio padrão = 0,0174
<i>z-score</i>	-	-0,929

*Concentração de Mo na solução analisada

**Concentração de Mo na amostra

Os dados citados na Tabela 3 foram avaliados pelo teste de Grubbs, afim de se verificar se existia algum valor significativamente diferente (*outlier*) entre as replicatas a um do nível de confiança de 95%. Segundo este teste, nenhum *outlier* foi observado.

O teste *z-score* é aplicado quando se deseja avaliar o desempenho de laboratórios, principalmente em testes de proficiência. O teste *z-score* foi também utilizado para o tratamento dos dados obtidos no ensaio interlaboratorial. Este teste é uma ferramenta estatística robusta e a aceitação dos valores dispersos (*outliers*) é maior, se comparada com o teste de Grubbs. Na avaliação interlaboratorial foi utilizada a mediana como estimativa do valor “verdadeiro” e a amplitude interquartilica normalizada (IQN) como medida de dispersão, ao invés do desvio padrão. Assim, o *z-score* foi calculado a partir da equação 3.

$$z = \frac{Sp - \text{mediana}(Sp)}{IQN} \quad (\text{eq. 3})$$

Onde “Sp” é a soma padronizada obtida pelo laboratório participante, mediana(Sp) é a mediana da soma padronizada entre os laboratórios e o “IQN” é a amplitude interquartílica normalizada dos laboratórios participantes.

Os valores de *z-score* são padronizados, os quais indicam o desempenho relativo de cada laboratório participante. A aceitação de desempenho dos laboratórios segue o seguinte critério: $|z| \leq 2$ indica desempenho satisfatório; $2 < |z| < 3$ indica desempenho questionável e $|z| \geq 3$ indica desempenho não satisfatório¹³.

A partir da equação 3 e dos dados constantes na Tabela 4, calculou-se o *z-score* mediante a equação 4 e verificou-se desempenho satisfatório, neste caso, do método de determinação por FAAS.

$$z = \frac{\text{Sp} - \text{mediana}(\text{Sp})}{\text{IQN}} = \frac{0,279 - 0,292}{0,014} = -0,929 \quad (\text{eq. 4})$$

Tabela 4. Resultados reportados pelos laboratórios participantes do ensaio interlaboratorial e avaliação dos resultados na determinação de Mo por FAAS. A concentração de Mo é expressa em %

AVALIAÇÃO INTERLABORATORIAL						
Laboratório	A	B	Média	Soma Padronizada	<i>z-score</i>	Avaliação
86	0,181	0,182	0,182	0,257	-2,6	questionável
29	0,187	0,188	0,188	0,265	-2	satisfatório
80	0,200	0,202	0,201	0,284	-0,6	satisfatório
84	0,202	0,199	0,201	0,284	-0,6	satisfatório
8	0,209	0,205	0,207	0,293	0,1	satisfatório
3	0,208	0,217	0,213	0,301	0,6	satisfatório
12	0,213	0,214	0,214	0,302	0,7	satisfatório
60	0,211	0,218	0,215	0,303	0,8	satisfatório
77	0,242	0,242	0,242	0,342	3,7	insatisfatório
21	ND	ND				
24	ND	ND				
54	ND	ND				
78	ND	ND				
65	ND	ND				
Mediana	0,208	0,205	0,207	0,292		
CV (%)	6,58			IQN	0,014	

Legenda; IQN: intervalo interquartílico normalizado; CV: coeficiente de variação; ND: não determinado

Fonte: LANAGRO

Para avaliar a precisão do método, analisou-se o grau de concordância entre os valores obtidos por medições repetidas, conduzidas por analistas diferentes para a mesma amostra de fertilizante. Na Tabela 5 são apresentados os resultados obtidos pelos analistas.

Tabela 5. Resultados obtidos por diferentes analistas na determinação de Mo numa amostra de fertilizante mineral por FAAS.

Amostra	Analista 1		Analista 2	
	Concentração de Mo* (mgL ⁻¹)	Concentração Mo (%)**	Concentração de Mo* (mgL ⁻¹)	Concentração Mo (%)**
1	11,88	0,196	12,27	0,202
2	11,95	0,198	11,39	0,190
3	11,87	0,196	11,76	0,195
4	12,01	0,198	11,59	0,193
5	11,81	0,195	11,99	0,202
6	12,00	0,198	12,15	0,200
7	12,16	0,201	11,76	0,197
8	11,88	0,196	11,59	0,192
Média	0,197		0,196	
Desvio Padrão	0,001909		0,004627	

*Concentração de Mo na solução analisada

**Concentração de Mo na amostra

Para verificar se os resultados obtidos pelos diferentes analistas eram estatisticamente iguais, foi aplicado o teste F.

Tabela 6. Aplicação do teste F aos resultados obtidos pelos dois analistas, conforme a Tabela 5.

	Analista 1	Analista 2
Média	0,197	0,196
Variância	3,643x10 ⁻⁶	2,141x10 ⁻⁵
Número de Medidas	8	8
Graus de liberdade	7	7
F _{calculado}	0,170	
F _{crítico unicaudal}	0,264	

Na Tabela 6 pode-se observar que o F_{calculado} é menor que o F_{crítico}, logo não existem diferenças significativas entre a variância dos resultados obtidos pelos dois analistas. Subsequentemente, foi, então, aplicado o teste *t-Student*, presumindo variâncias equivalentes, como mostrado na Tabela 7, para avaliar se havia diferença significativa entre as médias das determinações conduzidas pelos diferentes analistas.

Tabela 7. Aplicação do teste *t-Student* aos resultados obtidos pelos dois analistas, conforme a Tabela 5.

	<i>Analista 1</i>	<i>Analista 2</i>
Média	0,197	0,196
Variância	$3,643 \times 10^{-6}$	$2,141 \times 10^{-5}$
Número de medidas	8	8
Variância agrupada	$1,253 \times 10^{-5}$	
Graus de liberdade	14	
$t_{\text{calculado}}$	0,495	
$t_{\text{crítico uni-caudal}}$	1,761	
$t_{\text{crítico bi-caudal}}$	2,145	

Como se pode observar na Tabela 7, o valor de $t_{\text{calculado}}$ é menor do que o valor de $t_{\text{crítico}}$, logo os resultados obtidos pelos dois analistas não são significativamente diferentes.

6.1.3 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Os limites de detecção (LDs) e quantificação (LQs) teóricos foram estimados seguindo-se a abordagem clássica¹⁴, ou seja, a partir de n determinações de M_o nos brancos analíticos nas condições do método. Foram preparadas 7 replicatas do branco, com adição apenas dos reagentes, submetidos ao mesmo tratamento dado à amostra. Para o cálculo do LD e LQ utilizou-se as Equações 1 e 2. Os dados obtidos para o branco podem ser observados na Tabela 8.

As concentrações listadas na Tabela 8 foram calculadas dividindo-se as absorbâncias pelo coeficiente angular da equação de regressão linear informado na Figura 2.

Tabela 8. Resultados obtidos na determinação de Mo nos brancos analíticos por FAAS.

Branco	Concentração de Mo (mgL⁻¹)
1	0,166
2	0,228
3	0,211
4	0,186
5	0,211
6	0,173
7	0,163
Média	0,191
Desvio padrão	0,0255

A partir dos dados mostrados na Tabela 8, calculou-se o LD e o LQ mediante as equações 5 e 6, respectivamente.

$$LD_{instrumental} = b + 3\sigma_{br} = 0,191 + 3 \times 0,0255 = 0,268 \text{ mgL}^{-1} \quad (\text{eq. 5})$$

$$LD_{método} = \frac{0,268 \times 0,100 \times 1,67}{1,000} = 0,0448 \text{ mg g}^{-1} = 44,80 \mu\text{g g}^{-1}$$

$$LD = 0,0045 \%$$

$$LQ_{instrumental} = b + 10\sigma_{br} = 0,191 + 10 \times 0,0255 = 0,446 \text{ mgL}^{-1} \quad (\text{eq. 6})$$

$$LQ_{método} = \frac{0,447 \times 0,100 \times 1,67}{1,000} = 0,0746 \text{ mg g}^{-1} = 74,6 \mu\text{g g}^{-1}$$

$$LQ = 0,0075 \%$$

O LQ estimado é 26 vezes menor que a concentração de Mo no fertilizante analisado (Tabela 3), demonstrando que a sensibilidade do método proposto é adequada.

6.2 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PELOS DIFERENTES MÉTODOS

Os resultados obtidos na análise da amostra de fertilizante por absorção molecular (método espectrofotométrico) e FAAS podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9. Concentrações de Mo encontradas por absorção molecular no visível (VIS) e absorção atômica em chama (FAAS).

Replicata	Concentração de Mo (%)	
	FAAS	VIS
1	0,196	0,207
2	0,198	0,205
3	0,196	0,161
4	0,198	0,213
5	0,195	0,216
6	0,198	0,213
7	0,201	0,209
8	0,196	0,209
Média	0,197	0,204

Os dados apresentados na Tabela 9 foram avaliados segundo o teste de Grubbs, ao nível de confiança de 95%. Nenhum *outlier* foi observado para os resultados obtidos por absorção

atômica. No entanto, para o método espectrofotométrico (absorção molecular no visível), o teste de Grubbs identificou um *outlier* (destacado em azul na Tabela 9). Sendo assim, este valor foi excluído antes do tratamento dos dados segundo o teste F, cujos resultados podem ser observados na Tabela 10.

Tabela 10. Aplicação do teste F aos resultados obtidos pelos dois métodos, conforme a Tabela 9.

	VIS	FAAS
Média	0,210	0,197
Variância	$1,490 \times 10^{-5}$	$3,952 \times 10^{-6}$
Número de medidas	7	7
Graus de liberdade	6	6
$F_{\text{calculado}}$	3,771	
$F_{\text{crítico}}$	4,284	

Como pode ser observado na Tabela 10, o valor $F_{\text{calculado}}$ é menor do que o valor $F_{\text{crítico}}$, logo não existem diferenças significativas entre os métodos. A partir desta informação foi, então, aplicado o teste *t-Student*, como mostrado na Tabela 11, para avaliar se havia diferença significativa entre as médias dos resultados obtidos mediante as duas metodologias.

Tabela 11. Aplicação do teste *t-Student* aos resultados obtidos pelos dois métodos, conforme a Tabela 9.

	VIS	FAAS
Média	0,210	0,197
Variância	$1,491 \times 10^{-5}$	$3,643 \times 10^{-6}$
Número de medidas	7	8
Variância agrupada	$8,841 \times 10^{-6}$	
Graus de liberdade	13	
$t_{\text{calculado}}$	8,471	
$t_{\text{crítico bi-caudal}}$	2,160	

Como pode-se observar na Tabela 11, $t_{\text{calculado}}$ é maior do que o $t_{\text{crítico}}$, logo os resultados obtidos mediante as duas metodologias não são equivalentes para um nível de confiança de 95%. Essa diferença pode ser ocasionada pelo pouco treinamento do analista, ou ainda, pela incerteza do método. Seria necessário investigar a origem da diferença e estimar a incerteza do método, no entanto esses resultados foram imprevisíveis e tal investigação não foi planejada para o presente trabalho.

6.3 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS NO ENSAIO INTERLABORATORIAL PARA AS DUAS METODOLOGIAS

Os dados obtidos no ensaio interlaboratorial para o método espectrofotométrico são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Resultados reportados pelos laboratórios participantes do ensaio interlaboratorial e avaliação dos resultados na determinação de Mo por espectrofotometria. A concentração de Mo é expressa em %.

AVALIAÇÃO INTERLABORATORIAL						
Laboratório	A	B	Média	Soma Padronizada	<i>z-score</i>	Avaliação
24	0,181	0,191	0,186	0,263	-2,3	questionável
65	0,186	0,188	0,187	0,264	-2,1	questionável
12	0,198	0,199	0,199	0,281	-0,3	satisfatório
8	0,201	0,199	0,200	0,283	-0,1	satisfatório
80	0,200	0,200	0,200	0,283	-0,1	satisfatório
29	0,205	0,202	0,204	0,288	0,5	satisfatório
54	0,206	0,208	0,207	0,293	1	satisfatório
60	0,206	0,210	0,208	0,294	1,2	satisfatório
77	0,240	0,254	0,243	0,343	6,7	insatisfatório
3	ND	ND				
21	ND	ND				
78	ND	ND				
84	ND	ND				
86	ND	ND				
Mediana	0,201	0,2	0,2	0,284		
CV (%)	4,46			IQN	0,009	

Legenda; IQN: intervalo interquartilico normalizado; CV: coeficiente de variação; ND: não determinado

Fonte: LANAGRO

Com base nos resultados da Tabela 12 e de posse dos resultados obtidos na determinação de Mo por espectrofotometria, apresentados na Tabela 9, calculou-se o *z-score* para este método, segundo a equação 7.

$$z = \frac{Sp - \text{mediana}(Sp)}{IQN} = \frac{0,288 - 0,284}{0,009} = \mathbf{0,444} \quad (\text{eq. 7})$$

Segundo os critérios citados no item 5.1.2, o *z-score* obtido mediante a equação 7 é considerado satisfatório.

Para um tratamento estatístico mais completo com respeito aos dados obtidos por espectrofotometria, comparou-se os resultados obtidos no ensaio interlaboratorial com aqueles obtidos no presente trabalho, como mostrado na Tabela 13.

Tabela 13. Comparação dos resultados obtidos no ensaio interlaboratorial com aqueles obtidos no presente trabalho, por espectrofotometria, conforme as Tabelas 9 e 12.

	Presente Trabalho	Interlaboratorial
Média	0,204	0,204
Variância	$3,16 \times 10^{-4}$	$2,77 \times 10^{-4}$
Observações	8	9
Graus de liberdade	14	
$t_{\text{calculado}}$	0,041	
$t_{\text{crítico bi-caudal}}$	2,145	

Como se pode observar na Tabela 13, o valor de $t_{\text{calculado}}$ é menor do que o valor de $t_{\text{crítico}}$, logo, os resultados obtidos no ensaio interlaboratorial e neste trabalho não são significativamente diferentes.

Os dados obtidos no ensaio interlaboratorial para a determinação de molibdênio por FAAS constam na Tabela 4, sendo o *z-score* satisfatório, com valor de -0,929. Como mostrado na Tabela 14, comparou-se também os resultados obtidos no ensaio interlaboratorial com aqueles obtidos no presente trabalho, por FAAS.

Tabela 14. Comparação dos resultados obtidos no ensaio interlaboratorial com aqueles obtidos no presente trabalho, por FAAS, conforme as Tabelas 3 e 4.

	Interlaboratorial	Presente Trabalho
Média	0,207	0,197
Variância	$3,04 \times 10^{-4}$	$3,64 \times 10^{-6}$
Observações	9	8
Variância agrupada	$1,638 \times 10^{-4}$	
Graus de liberdade	15	
$t_{\text{calculado}}$	1,568	
$t_{\text{crítico bi-caudal}}$	2,131	

Como se pode observar na Tabela 14, o valor de $t_{\text{calculado}}$ é menor do que o valor de $t_{\text{crítico}}$, logo, os resultados obtidos no ensaio interlaboratorial e neste trabalho não são significativamente diferentes.

7. AVALIAÇÃO DE CUSTOS

O método de referência atual, para a determinação de Mo em fertilizantes minerais pelo LANAGRO, é baseado na absorção molecular no visível (método espectrofotométrico). Este método é de execução demorada, demanda o uso de vários reagentes e mão de obra, além de gerar resíduos tóxicos. Além disso, é necessária boa experiência na condução do método. Desse modo, um método de execução mais fácil e rápida faz-se necessário, de modo a atender a demanda dos laboratórios.

Os custos envolvidos na determinação de Mo em fertilizante mineral mediante a metodologia de referência foram comparados com aqueles envolvidos na determinação do elemento por FAAS, conforme a metodologia proposta no presente trabalho. O custo aproximado dos equipamentos e reagentes necessários para a implantação de cada método está apresentado na Tabela 15^{19, 20}.

Tabela 15. Custo comparativo de materiais e reagentes utilizados na determinação de Mo por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e espectrometria de absorção molecular no visível (método espectrofotométrico).

FAAS		Espectrometria Molecular	
Reagentes/Materiais	Custo (R\$)	Reagentes/Materiais	Custo (R\$)
Espectrômetro	119.700,00	Espectrofotômetro	37.576,00
Lâmpada de cátodo Oco de Mo	1103,40	HCl	19,81/L
Gás acetileno (cilindro 9 kg)	2098,09	SnCl ₂	0,25/g
Gás óxido nitroso (cilindro 33 kg)	2994,09	H ₂ SO ₄	35,16/L
Padrão de Mo 1000 mg.L ⁻¹	372,00/L	HClO ₄	567,62/L
AlCl ₃ .6H ₂ O	1,73/g	Fe ₂ (SO ₄) ₃ .9H ₂ O	68,00/g
HCl	19,81/L	NaSCN	2,19/g
		Padrão Mo 1000 mg.L ⁻¹	372,00/L
Total, R\$	126.289,12		38.640,98

Para comparar os custos das análises, foram estimados os gastos necessários para analisar 10 amostras, não sendo levado em consideração o custo da extração do elemento, que é a mesma para ambos os métodos. No cálculo dos custos foi considerada apenas uma replicata da amostra e a mão de obra foi estimada considerando-se o salário médio de um técnico de laboratório, em torno de R\$ 3.000,00.

Tabela 16. Custo comparativo para a análise de 10 amostras de fertilizante mineral por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e espectrometria de absorção molecular no visível (método espectrofotométrico).

FAAS		Espectrometria Molecular	
Reagentes	Custo (R\$)	Reagentes	Custo (R\$)
Solução Padrão de Mo	0,28	Solução Padrão de Mo	0,10
AlCl ₃ .6H ₂ O	5,81	HCl	0,16
HCl	0,02	SnCl ₂	1,00
Acetileno	15,22	H ₂ SO ₄	2,44
Nitroso	8,16	HClO ₄	9,08
		Fe ₂ (SO ₄) ₃ .9H ₂ O	27,20
		NaSCN	14,02
Mão de Obra	50,00	Mão de Obra	200,00
Total, R\$	79,49	Total, R\$	254,00

Como mostrado na Tabela 16, o custo da análise por FAAS é menor por causa da menor mão de obra envolvida. Assim sendo, o maior custo de implantação do método baseado na FAAS acaba sendo compensado pelo menor custo da análise. Ademais, a velocidade de análise por FAAS é maior, possibilitando a análise de um número maior de amostras por dia, o que também gera lucros para o laboratório. Deve ser considerado também que resíduos menos tóxicos e perigosos são gerados na análise por FAAS e, assim, o gasto para armazenamento/tratamento destes resíduos é também menor.

8. CONCLUSÃO

A determinação de molibdênio em fertilizante mineral por FAAS pode ser considerada adequada para o fim pretendido, pois conforme os resultados obtidos e apresentados ao longo desse trabalho, o método proposto atendeu satisfatoriamente aos parâmetros de validação avaliados. Além disso, os resultados obtidos mediante o método proposto foram estatisticamente iguais aos obtidos no ensaio interlaboratorial conduzido pelo LANAGRO.

Além disso, cabe ressaltar que tem-se o aumento da faixa linear com o método proposto em comparação ao método de referência, logo, método proposto é vantajoso em comparação ao método de referência, pois há redução do tempo de análise, o que é essencial quando há pouca mão de obra disponível no laboratório e elevada demanda. Envolve menos reagentes, com resíduos menos tóxicos e perigosos e, sobretudo, um custo menor da análise.

A partir dos resultados deste trabalho, o método proposto poderá ser implementado no LAFC para realizar a determinação de molibdênio por FAAS.

O presente trabalho, além de agregar mais experiência e conhecimento, possibilitou-me a vivência de um projeto e a busca de alternativas para os problemas que podem surgir, aplicando na prática o conhecimento teórico adquirido no curso de Química.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Instrução Normativa nº 46 de 22 de novembro de 2016, MAPA – Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Diário Oficial da União, seção 1.
2. www.anda.org.br/, acessado em outubro de 2017.
3. www.agricultura.gov.br/, acessado em outubro de 2017.
4. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA, 2017. 240 p.
5. SKOOG, HOLLER and CROUCH. **Principles of Instrumental Analysis**. 6ª Edition. Ed. Brooks/Cole 2007.
6. SKOOG, WEST, HOLLER and CROUCH. **Fundamentals of analytical chemistry**. 1ª Edition. 2016.
7. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária - RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017.
8. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO/IEC 17025: **Requisitos gerais de competência de laboratórios de ensaio e calibração**. Rio de Janeiro, 2005.
9. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de garantia da qualidade analítica: áreas de identidade e qualidade de alimentos e insumos**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA/ACS, 2015. 51 p.
10. Manual de validação, verificação/confirmação de desempenho, estimativa da incerteza de medição e controle de qualidade intralaboratorial. Divisão de ensaios químicos. Coordenação geral de apoio laboratorial. Nov/2014. MAPA-LANAGRO.
11. ALBANO, F. M.; RAYA-RODRIGUES, M. T.; **Validação e Garantia da Qualidade de Ensaios Laboratoriais**. Rede Metrológica, RS, Porto Alegre, 2009.
12. Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO), Qualidade e Tecnologia; DOQ-CGCRE-008: **Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos**. Brasil, 2010.
13. CHUI, Q.S.H.; BISPO, J. M. A.; IAMASHITA, C. O.; **O papel dos programas interlaboratoriais para a qualidade dos resultados analíticos**. Química Nova, volume 27, Nº. 6, 993-1003, 2004.

14. ANALYTICAL Methods Committee (Royal Society of Chemistry). Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit. [S.l.], Analyst, v. 112, p.199-204, fev., 1987.
15. http://www.cnpsa.embrapa.br/met/images/arquivos/15MET/desenvensao_part1.pdf (acessado em Novembro de 2018).
16. <https://www.graphpad.com/quickcalcs/Grubbs1.cfm>.
17. MILLER J.C; MILLER J.N. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. 6ª Edition. London: Pearson Education, 2010. 278 p.
18. <http://goldbook.iupac.org/html/L/L03540.html>. (acessado em novembro de 2018).
19. ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G.; **Estratégia para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS**. Quim. Nova, Vol. 27, No. 5, 807-812, 2004.
20. <https://loja.analiticaweb.com.br> (acessado em Outubro de 2018).
21. <https://www.sigmaaldrich.com/technical-service-home/product-catalog.html> (acessado em Outubro de 2018).
22. FIGUEIREDO, T. M. P.; **Validação de métodos analíticos**: determinação do teor de açúcar numa amostra de produto alimentar. 2012. Tese. Mestrado em Química – Universidade de Coimbra. Julho de 2012.
23. SAVCI, S.; **An Agricultural Pollutant**: Chemical Fertilizer. International Journal of Environmental Science and Development, Vol3, No. 1, February 2012.
24. MENDES, M. S. A.; OSZEVSKI, N.; SILVA, F. N.; MENDES, R. L.; BRITO, L. T. L.; **Impactos ambientais causados pelo uso de fertilizantes agrícolas**. Petrolina: Embrapa semiárido, 2010. cap. 3, p. 55-99.
25. INMETRO. Coordenação Geral de Acreditação. Orientação sobre validação de métodos analíticos. DOQ-CGCRE-008. Revisão 04 – Julho/2011.
26. Instrução Normativa Nº 39, DE 8 DE AGOSTO DE 2018. MAPA – Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Capítulo IV, Art. 20.
27. Programa de ensaio de proficiência em análises de fertilizantes e corretivos do MAPA. Relatório final da segunda rodada de 2016. Brasília – Distrito Federal. 17/04/2017.
28. SFREDO, G. J.; BORKERT, C. M.; CASTRO, C. de. Estudo de micronutrientes na cultura da soja em um Latossolo Roxo eutrófico argiloso de Londrina, PR. Londrina : Embrapa-CNPSO, 1994. 7 p.
29. SFREDO, G. J.; BORKERT, C. M.; NEPOMUCENO, A. L.; OLIVEIRA, M. C. N. Eficácia de produtos contendo micronutrientes, aplicados via semente, sobre produtividade e

teores de proteína da soja. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v. 21, p. 41-45, 1997.

30. GUPTA, U. C.; LIPSETT, J. Molybdenum in soil, plants, and animals. Advances in Agronomy, Madison, v. 34, p. 73-115, 1981.