

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

MARCELO CAETANO ALEXANDRE MARCELO

**DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM CORRETIVOS DE ACIDEZ DE SOLO:
AVALIAÇÃO DO MÉTODO OFICIAL POR ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA**

Porto Alegre, julho de 2011

INSTITUTO DE QUÍMICA

MARCELO CAETANO ALEXANDRE MARCELO

**DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM CORRETIVOS DE ACIDEZ DE SOLO:
AVALIAÇÃO DO MÉTODO OFICIAL 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 obtenção do grau de Químico Industrial.

Profa. Dra. Dirce Pozebon
Orientadora

Msc. Tiago Charão de Oliveira
Co-orientador

Porto Alegre, julho de 2011

SUMÁRIO

Abreviaturas.....	4
Apresentação.....	5
1. Estado da Arte.....	6
1.1 Corretivos de Acidez do Solo.....	6
1.2 Legislação.....	8
1.3 Espectrometria de Absorção Atômica com Chama	10
1.4 Validação de Metodologia.....	12
2. Situação Atual.....	14
3. Objetivos.....	15
4. Proposta Tecnológica.....	16
5. Metodologia.....	17
5.1 Materiais, Equipamentos e Condições de Trabalho.....	17
5.2 Preparo de Padrões e Amostras.....	18
5.3 Validação do Método.....	19
5.3.1 Estudo da Linearidade.....	20
5.3.2 Estudo do Efeito de Matriz.....	21
5.3.3 Estudo da Exatidão.....	21
5.4 Volumetria de Complexação por EDTA.....	22
5.5 Análise por ICP OES.....	22
6. Resultados e Discussão.....	23
6.1 Avaliação do Método.....	23
6.2 Desenvolvimento de Metodologia.....	33
6.3 Comparação dos Resultados entre Técnicas.....	36
6.4 Avaliação de Custos.....	37
7. Conclusão Crítica	40
8. Perspectivas.....	41
9. Bibliografia.....	42
Anexo I – Cálculo da linearidade.....	45

Lista de Abreviaturas

AOAC – *Association of Official Analytical Chemist*

ASTM - *American Society for Testing and Materials*

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

EURACHEM - *Analytical Chemistry Group*

FAAS – Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês *flame atomic absorption spectrometry*)

ICP OES – Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (do inglês, *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*)

IEC – *International Engineering Consortium*

ISO – *International Standardization Organization*

LANAGRO – Laboratórios Nacionais Agropecuários

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MRC – Material de referência certificado

NBR – Norma Brasileira

NIST – *National Institute of Standards and Technology*

PN – Poder de Neutralização

Apresentação

A utilização de corretivos de acidez do solo é de suma importância para o plantio, pois ocasiona o aumento da fertilidade do solo.

No Brasil, corretivos de acidez do solo são fiscalizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que, através da Instrução Normativa N° 28 de 2007¹, estabelece o uso da espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) como uma técnica oficial para determinação do teor de cálcio em corretivos de acidez.

A FAAS é largamente utilizada na determinação de cálcio em diversas matrizes^{2,3}, cujas interferências são conhecidas^{4,5,6,7}. Para determinação de Ca em cimento, Sotera e colaboradores⁵ identificaram como interferentes o alumínio, titânio e silício. Estudos realizados por Tyson e colaboradores⁷ apontaram a necessidade de eliminação do silício para uma avaliação mais precisa dos teores de cálcio em amostras de solo. Desse modo, para a determinação de cálcio em corretivos do solo por FAAS, é necessário a validação do método oficial proposto pelo MAPA. O método que vem sendo utilizado no MAPA é uma extensão do escopo do método da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) n° 945.04, que recomenda a determinação de Ca em fertilizantes por FAAS⁸.

A validação consiste em comprovar a eficiência e confiabilidade do método⁹. Os parâmetros utilizados para tal, segundo a literatura¹⁰, são a precisão (repetibilidade e reprodutibilidade), exatidão, linearidade, faixa de trabalho, seletividade, incerteza da medição, estabilidade, os limites de detecção e quantificação e a robustez.

A proposta deste projeto tecnológico foi obter dados para validação do método oficial proposto pelo MAPA, utilizado para determinação de cálcio em corretivos de acidez do solo por FAAS. Em face de resultados preliminares que indicavam uma superestimação da concentração de cálcio em corretivo de acidez, foi desenvolvida uma metodologia analítica empregando-se material de referência certificado. Além disso, a concentração de cálcio em corretivos de acidez do solo foi efetuada por diferentes técnicas: volumetria de complexação com EDTA, um dos métodos oficiais do MAPA, e por ICP OES (espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado) e os resultados obtidos foram então comparados.

1. ESTADO DA ARTE

1.1 CORRETIVOS DE ACIDEZ DE SOLO

Desde a antiguidade têm-se registros do uso de corretivos de acidez. O uso desses materiais, na forma de cinzas e cal, é citado no antigo testamento, no plantio de videiras e oliveiras. As margas, misturas de calcário, matéria orgânica e argila, eram utilizadas pelos gregos e pelos gauleses nos campos de cultura. A identificação dos solos ácidos era feita pelo paladar e pela observação da vegetação¹¹.

No Brasil, há relatos do fim do século XIX referenciando o emprego de “cal” no setor cafeeiro. Na época, este termo era aplicado tanto ao calcário, a cal propriamente dita e ao gesso¹¹.

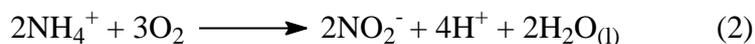
A ocorrência de solos ácidos é natural e comum em regiões que apresentam precipitação pluviométrica suficientemente alta para lixiviar quantidades apreciáveis de bases trocáveis do solo¹². No Brasil, as ocorrências de solos com esta condição são bastante comuns¹³.

Solos ácidos possuem propriedades desfavoráveis para o crescimento e a produção vegetal. Nestas condições, o fósforo apresenta-se na forma de fosfato de ferro e fosfato de alumínio, que possuem pouca solubilidade no meio, enquanto que em solos neutros o fósforo está presente na forma fosfatos de cálcio que são mais aproveitáveis pelas plantas¹⁴.

A decomposição ou mineralização da matéria orgânica, fonte de nutrientes como boro, enxofre e nitrogênio, realizada pela atividade microbiana, também altera o pH do meio¹⁵. Solos ácidos também podem possuir alto teor de manganês, que neste caso é responsável pela inibição da síntese da clorofila na planta, além de diminuir a absorção de ferro¹³. Outras características do solo ácido são baixas concentrações de nutrientes (por exemplo, cálcio e magnésio), baixa capacidade de troca catiônica e menor disponibilidade de molibdênio¹⁴.

A acidificação dos solos é um processo que se desenvolve à medida que cátions básicos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+) adsorvidos ao solo são deslocados para a solução do solo pelos íons H^+ . O aumento do suprimento de íons H^+ pode ser ocasionado, entre outros motivos, por ação microbiana, que oxida o íon NH_4^+ a NO_2^- (equação 2) e pela

decomposição da argila, fazendo com que o íon Al^{+3} fique disponível no meio, levando à hidrólise (equação 1)¹².



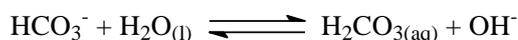
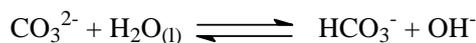
O cultivo intenso sem reposição de nutrientes também promove a acidez do solo, pois provoca a retirada contínua de cátions essenciais, aumentando a concentração de íons H^+ . Processos naturais também podem ocasionar a acidez, tais como a já citada lixiviação pelas águas da chuva e a erosão das camadas superficiais e mais ricas em nutrientes¹².

De uma maneira geral, as culturas do arroz, da cana de açúcar e da soja, entre outras, possuem pH ótimo de cultivo em torno de 6,5, em uma faixa entre 5,5 e 7,0¹⁶. Logo, é considerado um solo ácido aquele que possui pH abaixo de 5,5¹⁴.

O processo que utiliza corretivos de acidez para o ajuste do pH é denominado calagem e os produtos capazes de realizar a neutralização são definidos como corretivos de acidez. Atualmente, os materiais que podem ser usados para tal finalidade são aqueles que contêm óxidos, hidróxidos, carbonatos e silicatos de cálcio e/ou de magnésio¹⁷.

O material corretivo natural mais abundante é o calcário, constituído basicamente de carbonato de cálcio, e em menor fração, carbonato de magnésio¹⁸. Este mineral é classificado em função do teor de magnésio, sendo considerado calcário calcítico quando o teor de Mg é menor que 5%, magnesiano quando este teor está entre 5 e 20% e dolomítico quando o teor de Mg é superior a 20%¹⁹.

O efeito neutralizante do calcário no solo pode ser simplificado pelos seguintes equilíbrios:



Além do calcário, outros materiais podem ser usados como corretivos. Entre eles encontram-se os óxidos de cálcio e de magnésio obtidos pela calcinação do calcário, também chamados de cal virgem. Outros exemplos são a cal hidratada, composta por hidróxido de cálcio e de magnésio, e os silicatos de cálcio e magnésio provenientes da escória produzida na indústria do aço¹⁸.

A avaliação do teor de neutralizantes nesses materiais, definida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pode ser feita através da determinação do poder de neutralização (PN) e dos teores de cálcio e magnésio.

A determinação do PN consiste em atacar o corretivo com um ácido mineral razoavelmente diluído e de concentração conhecida, de modo a medir a quantidade deste ácido que foi neutralizada. Esse valor é expresso em equivalentes de CaCO_3 . Mas, este valor indica apenas o PN, e, por isso, cálcio e magnésio, também precisam ser determinados. Estes geralmente expressos na forma de óxidos de CaO e MgO ¹². A Tabela 1 apresenta a equivalência em CaCO_3 pelos diferentes materiais utilizados na prática de calagem. Conforme a Tabela 1, o MgCO_3 apresenta uma capacidade de neutralização 19% maior que o CaCO_3 . Sendo assim, 100 kg de MgCO_3 tem uma ação corretiva equivalente a 119 kg de CaCO_3 .

Tabela 1. Capacidade de neutralização pelos diferentes materiais utilizados como corretivos de acidez do solo ⁷

Espécie Neutralizante	Poder de Neutralização (Eq de CaCO_3)
CaCO_3	100
MgCO_3	119
CaO	179
MgO	248
Ca(OH)_2	135
Mg(OH)_2	172
CaSiO_3	86
MgSiO_3	100

1.2 LEGISLAÇÃO

No Brasil, a primeira lei sobre o tema é a Lei N° 6.138 de 1974²⁰, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização de fertilizantes, corretivos e inoculantes destinados à agricultura e outros assuntos relacionados. Ela define corretivos como sendo todo material capaz de, quando adicionado ao solo, corrigir uma ou mais características

desfavoráveis às plantas. Ela também coloca sob supervisão do Ministério da Agricultura, a competência de exercer a fiscalização e inspeção destes materiais.

Em 1975 entrou em vigor o Decreto N° 75.583²¹, que regulamentou a lei de inspeção e fiscalização de 1974. Para corretivos, o decreto especificou os valores mínimos para a soma de óxidos, de cálcio e de magnésio, e PN. Também determinou que a granulometria, propriedade que estima a dimensão das partículas, fosse inferior a 2 mm. Este decreto também determinou a tolerância pela falta de nutriente sendo este 3% para óxido de cálcio, 2% para óxido de magnésio e 4% para a soma de óxidos.

Em 1980, o Decreto N° 75.583 foi revogado pela Lei N° 6.894²², que atualizou o tema. O Decreto N° 86.955 de 1982²³ regulamentou essa lei e acrescentou o conceito de corretivo de acidez ou alcalinidade, definidos como qualquer produto que promova a alteração da acidez ou da alcalinidade do solo, sem trazer nenhuma característica prejudicial.

Através da Portaria N° 31 de 1982²⁴ foram aprovados os métodos analíticos considerados padrões para análise de corretivos, fertilizantes e inoculantes. Para corretivos foram dispostos o modo de preparo das amostras e as análises física, granulométrica e química, esta incluindo os teores de cálcio, magnésio e o PN.

Para avaliação do PN o manual de métodos anexado à portaria propõe duas metodologias diferentes: a primeira consiste na solubilização da amostra em ácido clorídrico 0,5 mol L⁻¹ e, depois de acrescido o indicador, titulado o excesso de ácido com hidróxido de sódio, também diluído. A segunda consiste numa titulação potenciométrica. Em ambos os casos o PN é expresso em equivalentes de carbonato de cálcio (CaCO₃).

Similarmente ao PN, para determinação do teor de magnésio também há ensaios distintos. O método volumétrico, que consiste na extração do magnésio presente no corretivo por uma mistura de ácidos clorídrico e nítrico sob aquecimento, seguido de ajuste do pH e posterior titulação EDTA (agente quelante). O método do pirofosfato consiste na extração do magnésio, de maneira similar ao método volumétrico, e sua precipitação na forma de fosfato de magnésio (Mg₂P₂O₇) é determinado.

Para o cálcio, também estão dispostos dois métodos para sua determinação. O método volumétrico, similar ao do magnésio, e o método permanganométrico, que consiste na titulação do extrato ácido obtido por uma solução de permanganato de potássio (KMnO₄).

Salienta-se que todos os métodos acima descritos foram extraídos diretamente da *Association of Official Analytical Chemists (AOAC)*²⁵.

Em 2006, a Instrução Normativa N° 35²⁶ do MAPA, vigente atualmente, determinou, entre outros parâmetros, os teores de Ca, Mg e PN mínimos para corretivos de acidez. A Tabela 2 apresenta os valores mínimos para PN e soma de óxidos para corretivos comercializados.

Tabela 2. Valores mínimos para PN e soma dos óxidos de Ca e Mg em corretivos de acidez de solo²⁶

Corretivos de Acidez	PN, Eq CaCO ₃	CaO + MgO, %
Calcário	67	38
Cal virgem agrícola	125	68
Cal hidratada agrícola	94	50
Calcário calcinado agrícola	80	43
Outros	67	38

O manual de métodos foi revisado somente em 2007, pela a Instrução Normativa N° 28 de 2007¹. A portaria de 1982 foi revogada e o manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos foi anexado. Desse modo, alguns métodos da portaria foram retirados, entre eles a determinação de cálcio em corretivos de acidez por titulação com KMnO₄ em corretivos. Outros métodos foram acrescentados, sendo incluída a determinação de cálcio em corretivos por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Este último é uma adaptação da metodologia para fertilizantes, também presente no manual de 2007^{8,25}. Este método difere-se dos demais por não ter como origem uma publicação internacional (que no caso é AOAC) para esta matriz.

1.3 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA

A FAAS é uma técnica que possibilita determinar quantitativamente elementos em soluções líquidas ou gasosas (indiretamente). Os componentes básicos de um espectrômetro de FAAS incluem uma fonte de radiação, monocromador, atomizador, detector e processador de sinal. O princípio fundamental da AAS envolve a medida da absorção da intensidade da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de

radiação primária, por átomos em seu estado fundamental presentes num atomizador, que neste caso é a chama.

O FAAS é uma técnica monoelementar onde a amostra (na maioria das vezes líquida) é introduzida na chama através de um nebulizador. A chama (produzida por combustão de gases – geralmente ar/acetileno ou NO_2 /acetileno) funciona como atomizador, sendo um reservatório de átomos no estado fundamental.

A FAAS é bastante utilizada para a determinação de cálcio em diferentes matrizes. Por exemplo, Segade e colaboradores² determinaram cálcio em tecidos de peixes, enquanto que Carneiro e colaboradores³ o fizeram em biodiesel.

Porém, como em qualquer técnica analítica, interferências químicas podem existir, pois alguns componentes da matriz afetam o sinal do analito. Portanto, há a necessidade de estudar efeito da matriz, para a obtenção de resultados exatos e precisos⁴.

Sotera e colaboradores⁵ realizaram um estudo das interferências sobre o cálcio em cimento, constatando modificações da absorbância esperada devido à presença de interferentes como alumínio, titânio e silício. Em chama ar/acetileno, os autores observaram uma supressão do sinal do cálcio, em torno de 35%. Investigaram também a influência do lantânio na redução dessas interferências e observaram que uma adição deste componente suprimiu as interferências.

Kmetov e colaboradores⁶ investigaram o uso de corretores de interferência na determinação de cálcio em musgo por FAAS. Com a adição de estrôncio, os autores obtiveram uma baixa recuperação de cálcio, de 56 a 75%. Compararam também a adição de cloreto de lantânio (LaCl_3) com a de nitrato de lantânio ($\text{La}(\text{NO}_3)_3$), e observaram resultados mais satisfatórios mediante a adição de LaCl_3 . Por fim, investigaram a melhor concentração desse reagente a ser utilizada e concluíram que a absorbância mais alta era obtida quando a concentração de La na solução da amostra era 1% (m/v).

Já nos estudos de Tyson e colaboradores⁷ foi concluído que na determinação de cálcio mediante utilização de chama ar-acetileno é necessário a remover os silicatos presentes na amostra. Caso contrário poderá ocorrer supressão do sinal do cálcio.

1.4 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA

O objetivo de se validar um método analítico é assegurar que em uma rotina de análises serão obtidos resultados confiáveis. Apenas uma comparação dos resultados obtidos mediante o método em questão com valores certificados para materiais de referência não é o suficiente. Os objetivos de uma validação não são simplesmente a obtenção da veracidade de um resultado, mas também avaliar os riscos que podem ser expressos pela incerteza da medida associada a este resultado⁹.

Segundo a norma NBR ISO/IEC 17025:2005²⁷, a validação de métodos analíticos é a confirmação por exame, fornecendo evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos. Esta definição implica, sobretudo, que uma investigação detalhada deve ser realizada para provar que um método analítico, quando corretamente aplicado, produz resultados que são adequados à finalidade, com eficácia e precisão conhecidas²⁸.

Um método deve ser validado quando surge a necessidade de verificar a adequação de seu desempenho em relação a uma nova situação analítica, ou seja, no caso de outros métodos desenvolvidos pelo próprio laboratório, ou quando ocorre a extensão do escopo de um método já validado, ou mesmo quando um aprimoramento é incorporado ao sistema, entre outros²⁹.

Atualmente, existem várias organizações internacionais de renome que oferecem orientações na validação de métodos e assuntos relacionados. Algumas referências são a AOAC³⁰, a American Society for Testing and Materials (ASTM)³¹ e a Analytical Chemistry Group (EURACHEM)³².

Existem critérios bem definidos para a validação de métodos analíticos, requeridos como evidências objetivas. Estes são: precisão (repetibilidade e reprodutibilidade), exatidão, linearidade, faixa de trabalho, seletividade, incerteza da medição, estabilidade, limites de detecção e quantificação e robustez¹⁰.

Segundo Albano e colaboradores¹⁰, os critérios adotados para a validação de um método analítico são os que seguem.

Linearidade: capacidade de demonstrar que os sinais obtidos são diretamente proporcionais às concentrações do analito dentro da faixa de trabalho especificada. A linearidade em uma curva de calibração envolve a obtenção de sinais que variam linearmente com a concentração.

Efeito de matriz: avaliação das interferências sobre o analito através da comparação dos sinais deste em diferentes concentrações na presença e ausência da matriz.

Seletividade e especificidade: indica o quanto o método é indiferente à presença de interferentes presentes na matriz da amostra. Logo, é a capacidade de discriminar o sinal do analito de substâncias análogas.

Exatidão: é o grau de concordância entre o resultado de uma medição e um valor de referência aceito como verdadeiro, ou seja, ela traduz a concordância dos valores experimentais com um valor certificado.

Precisão: reflete a tendência de maior ou menor dispersão dos resultados das medidas, pois ela reflete a concordância entre os valores experimentais. A repetibilidade é definida como a conformidade entre os resultados de medições sucessivas nas mesmas condições e a reprodutibilidade é definida como a conformidade das medidas efetuadas sob condições variadas.

Limite de detecção (LD): é o menor valor detectável com uma precisão aceitável em função do ruído do equipamento.

Limite de quantificação (LQ): representa o menor valor determinado com confiabilidade analítica definida.

Robustez: é a suscetibilidade do método analítico de responder a pequenas alterações experimentais.

2. SITUAÇÃO ATUAL

O método que consta no manual de métodos oficiais para determinação de cálcio por FAAS é, a princípio, uma extensão do escopo de uma metodologia internacionalmente reconhecida e utilizada para fertilizantes, que é a (AOAC) nº 945.04²⁵.

Todavia, diferente do método para fertilizantes, não há publicações internacionais demonstrando sua adequação para corretivos de acidez de solo. Há apenas um consenso entre o MAPA e as empresas produtoras. Muito embora a concentração de cálcio encontrada no corretivo de acidez possa ser maior ou menor do que a “real”, este valor é aceito.

O método de determinação de cálcio em corretivos inicia-se com a extração das amostras (previamente pesadas) com ácido clorídrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ sob aquecimento em sistema aberto. A seguir, essas amostras extraídas são transferidas para balões volumétricos e o volume completado com água. A próxima etapa consiste na filtração e posterior diluição em cerca de 100 a 150 vezes, dependendo das informações do fabricante, quanto ao teor de cálcio presente.

Para a determinação de cálcio por FAAS, uma curva de calibração é preparada - $5,0 \text{ mg L}^{-1}$, 10 mg L^{-1} , 15 mg L^{-1} , 20 mg L^{-1} e mais o branco - e a diluição das amostras ajustada, de modo que o valor estimado de absorvância corresponda àquela da solução de calibração com concentração intermediária da curva de calibração. Uma alíquota de 5 mL de solução de cloreto de lantânio 50 g L^{-1} é adicionada às soluções de calibração, ao branco e às amostras antes de ser completado o volume final de cada balão. O espectrômetro de FAAS é então ajustado para realizar as medições, incluindo a posição da chama ar-acetileno, o alinhamento da lâmpada de cátodo oco de cálcio, a largura da fenda espectral e o comprimento de onda, de acordo com o manual do equipamento utilizado.

3. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi originalmente estender o escopo do método apresentado pela AOAC (usado na determinação de cálcio em fertilizantes) para corretivos de acidez de solo e apresentar evidências de sua validação. No entanto, segundo os resultados preliminares obtidos, houve a necessidade de redirecionar o objetivo para o desenvolvimento de uma nova metodologia e a validação desta.

Os parâmetros de validação avaliados foram a linearidade, o efeito de matriz, a exatidão, a precisão e a seletividade. Os parâmetros foram avaliados mediante análise de material de referência certificado e comparação dos resultados com os obtidos por outras técnicas; ICP OES e volumetria de complexação com EDTA, este último considerado como referência pela AOAC e adotado pelo MAPA.

Este trabalho também teve como objetivo averiguar a necessidade da adição de lantânio na determinação de cálcio em corretivos de acidez do solo por FAAS. Por fim, comparar os resultados obtidos através do método desenvolvido e o apresentado no manual oficial do MAPA.

4. PROPOSTA TECNOLÓGICA

Este trabalho apresenta como proposta tecnológica a validação da metodologia de determinação cálcio por FAAS, empregada pelo MAPA na fiscalização e perícia do teor desse elemento em corretivos de acidez de solo.

Para a validação são utilizados critérios já fundamentados na comunidade científica, compreendidos no tratamento estatístico desenvolvido por Fenille e colaboradores³³.

A presente proposta também teve como prioridade a elaboração de uma nova metodologia de determinação de cálcio em corretivos de acidez do solo, sendo usados os mesmos parâmetros de validação para demonstrar a eficiência do método em comparação com outros de reconhecimento internacional.

Por fim, avaliar os custos envolvidos na determinação de cálcio em corretivos de acidez pelo método volumétrico (complexação com EDTA) e o desenvolvido no presente trabalho (FAAS).

5. METODOLOGIA

5.1 MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E REAGENTES

Foram utilizados carbonato de cálcio (CaCO_3 - CAS N° 471-34-1), padrão primário, com pureza estimada na faixa de 98,5 a 100,5 %, marca Sigma-Aldrich e óxido de lantânio (La_2O_3 - CAS N° 1312-82-8) da Sigma-Aldrich, com pureza mínima de 99,9%. Ácido clorídrico (HCl - CAS N° 7647-01-0) fumegante de fração mássica 37% a 38%; cianeto de potássio (KCN - CAS N° 60195-52-0) com pureza superior a 97%; calcon (sal de sódio ácido 1-(2-hidróxi-1-naftilazo)-2-naftol-4-sulfônico - CAS N° 2538-85-4) e trietanolamina de pureza superior a 99% (CAS - N° 102-71-6) da marca Merck foram também utilizados. Foram utilizados ainda ácido fluorídrico (HF - CAS N° 7782-41-4) de fração mássica 38%, marca Cromatos Produtos Químicos; ácido etilenodiamino tetracético (EDTA - CAS N° 94108-75-5) de pureza superior a 99%, da marca Sigma Aldrich; hidróxido de potássio (KOH - CAS N° 71769-53-4) da marca Synth, com pureza estimada em 85% e metanol da marca Montedison Farmacêutica (CAS - N° 67-56-1), com pureza superior a 99,9%.

O material de referência certificado utilizado foi o Limestone 1d (agrillaceous) do *National Institute Standards and Technology (NIST)*, cuja concentração de óxido de cálcio certificada é $52,85 \pm 0,16\%$ e a de óxido de silício $4,080 \pm 0,071\%$, com validade de certificação até 2024.

Uma amostra de corretivo de acidez, procedente do programa de comparações intralaboratoriais da Rede de Laboratórios Nacionais Agropecuários (LANAGRO), codificada como 12/2010, foi utilizada como material de referência não certificado. O Laboratório de Fertilizantes e Corretivos da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) cedeu sete amostras de corretivos de acidez do solo, com faixas amplas de teores de CaO e MgO e PN. Estas amostras haviam sido coletadas pelo MAPA para fiscalização e entregues à UNISC para análise.

Toda água utilizada foi previamente destilada em um destilador de água da marca Biopar Equipamentos Eletro-Eletrônicos. Foi utilizada balança analítica da marca Mettler Toledo, modelo XS204. Para filtrar as soluções das amostras foi utilizado papel filtro para filtração rápida, da marca Munktell's.

Para a determinação de cálcio foi utilizado espectrômetro de FAAS da marca PerkinElmer, modelo Analyst200 e lâmpada de cátodo oco multielementar cálcio-

magnésio-alumínio. O comprimento de onda selecionado foi 422,67 nm, a fenda espectral foi de 0,7 nm, a vazão de acetileno (Air Liquide) foi de 2,7 L min⁻¹ e a do ar 10 foi de L min⁻¹.

Para a determinação de cálcio foi utilizado também um espectrômetro de ICP OES da Varian, modelo Vista-MPX CCD simultaneous, com vista de observação radial do plasma, em conjunto com um nebulizador ultrassônico, modelo CETAC-U5000AT⁺. A potência do plasma escolhida foi 1,3 kW, a vazão do gás do plasma foi de 15 L min⁻¹ e a do gás auxiliar foi de 1,5 L min⁻¹. A altura da vista de observação foi 4 mm e a linha de emissão escolhida para o cálcio foi 422,673 nm. Foi utilizado argônio da marca Air Liquide, com pureza de 99,999%.

5.2 PREPARO DE PADRÕES E AMOSTRAS

A preparação das amostras de corretivos de acidez de solo e padrões utilizados seguiu os procedimentos do manual de métodos oficial⁸, exceto a etapa de desenvolvimento da nova metodologia.

5.2.1 Preparação dos Padrões

Uma solução estoque contendo 1000 mg L⁻¹ de Ca em meio ácido clorídrico foi preparada a partir de carbonato de cálcio, previamente seco a 105 °C por duas horas. Posteriormente, pela diluição desta solução estoque, preparou-se uma solução de trabalho contendo 25 mg L⁻¹ de Ca. Solução estoque de lantânio 50 g L⁻¹ foi preparada através da solubilização de La₂O₃ em solução de ácido clorídrico 1:3.

5.2.2 Preparação das Amostras

No caso do método oficial, massas exatas de amostra variando entre 0,2 g e 0,5 g (contidas em copos becker colocados em chapa aquecedora) foram digeridas sob fervura constante por aproximadamente 5 minutos em presença de 50 mL de solução de ácido clorídrico 0,5 mol L⁻¹. Em seguida, as amostras foram resfriadas e transferidas para balão volumétrico de 100 mL cujo volume foi completado até a marca com água destilada. Logo a seguir foi realizada a filtração em papel filtro, para remoção dos sólidos suspensos na amostra. Este filtrado foi diluído 100 a 250 vezes, de acordo com a

massa pesada e concentração de analito na amostra, em duas etapas, sendo a primeira para um balão de 100 mL e a segunda para um balão de 25 mL. Neste balão final adicionou-se 5 mL da solução estoque de lantânio, nos experimentos onde esse reagente foi utilizado. Nas adições de padrão, quantidades crescentes de CaCO₃ sólido foram acrescentadas à amostra na etapa de pesagem, quando se visava verificar a recuperação do analito e o efeito da matriz. Nas etapas finais do trabalho, quando a recuperação já era conhecida e desejava-se verificar somente a interferência supostamente causada pelo silício presente na amostra, foram adicionadas quantidades específicas da solução padrão de trabalho diretamente no balão contendo a solução final.

No caso do desenvolvimento de metodologia, uma massa exata de 0,2 g de amostra foi digerida em duas etapas, em bloco digestor. A amostra foi colocada em frasco de PTFE fechados com tampa de rosca. A primeira etapa consistiu em fluorizar a amostra no frasco aberto, mediante acréscimo de alíquotas definidas de ácido fluorídrico, com posterior aquecimento para que este evaporasse lentamente. Inicialmente foram adicionados 3 mL de HF, seguido de aquecimento a 100° C até a secagem total. Em seguida foram adicionados ao frasco mais 2 mL de HF, que foi seco nas mesmas condições. Na segunda etapa da digestão foram acrescentados 10 mL de ácido clorídrico 37% (m/m), o frasco foi em seguida fechado e a mistura aquecida a 160 °C por 4 horas. A seguir, a amostra digerida foi transferida para frasco de polipropileno graduado e o volume completado a 50 mL com água destilada. Posteriormente, a solução foi diluída 100 a 150 vezes, em frasco graduado de polipropileno.

5.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

A validação de um método analítico é um processo que confere validade e confiança³⁵, e seus pressupostos são ditos como corretos, desde que as mesmas etapas sejam seguidas. Conforme citado anteriormente, este trabalho, as variáveis estudadas para a validação do método foram a linearidade, o efeito da matriz, a seletividade, a exatidão e a precisão.

5.3.1 Estudo da Linearidade

Diferentes curvas de calibração foram preparadas para avaliação da linearidade e faixa de trabalho. Para cada intervalo considerado de concentração, seis soluções com

diferentes concentrações de cálcio foram preparadas em triplicata em balões volumétricos de 25 mL, acompanhadas de um branco também preparado em triplicata.

As concentrações das soluções de calibração foram escolhidas de modo que não ocorressem pontos de alavancagem, ou seja elas ficaram distribuídas em intervalos o mais homogêneos possível, evitando desvios estatísticos no cálculo da regressão quadrática. Essas soluções foram acrescidas de 5 ml da solução estoque de lantânio, quando especificado, e o volume do balão completado até 25 mL com água. As leituras das absorvâncias foram feitas em ordem aleatória, exceto o branco, que foi utilizado para ajuste do zero instrumental.

Com os dados obtidos foi realizada uma regressão linear pelo método dos mínimos quadrados³⁵ para a obtenção da reta e, com isto, a estimativa do coeficiente angular (α), coeficiente linear (β), coeficiente de determinação (R^2), os resíduos e suas variâncias.

Inicialmente foi realizado o teste residual de Jacknife³⁵, para a avaliação de possíveis pontos a serem descartados. Neste teste é comparado o desvio padrão de cada medida (J_{ei}), que seguem uma distribuição t . Valores que excedem o valor de t crítico são excluídos e a regressão linear é refeita sem a presença daquele ponto.

A seguir, foi realizado o teste Ryan-Joiner³⁶ para identificar a normalidade da distribuição dos resíduos. Estes valores são ordenados e lançados contra o correspondente percentual em uma curva normal padrão. Desse modo, caso os dados sigam uma distribuição normal, eles compreenderão uma reta comum e caso estes sigam outra distribuição há a formação de uma leve curvatura na reta.

A homoscedasticidade foi avaliada pelo teste de Brown-Forsythe³⁷, onde os resíduos são divididos em dois grupos de tamanhos n_1 e n_2 e suas medianas calculadas para posterior comparação. De modo que, se os valores não excederem t_L , os dados são considerados homoscedásticos.

Para a avaliação de independência dos resíduos, o teste de Durbin-Watson³⁸ propõe primeiramente que os resíduos sejam independentes, de acordo com uma estatística d . Para cada conjunto de dados existem dois limites para d , um inferior e um superior. Se d estiver entre os limites, o teste é inconclusivo, se $d < d_L$ existe autocorrelação e se $d > d_U$ há independência.

A aplicação destes testes estatísticos e definições correspondentes estão detalhados no anexo.

Por fim, para o estudo da significância da regressão e desvios da linearidade foi realizada análise das variâncias, conforme procedimento proposto por Junqueira e colaboradores³⁵. Se $p < 0.05$ significa que há há desvio de linearidade.

5.3.2 Estudo do Efeito de Matriz

Foram preparadas duas curvas de calibração, uma na ausência de matriz e a outra na presença da matriz. Neste caso o analito foi adicionado à solução da amostra digerida. Em ambas as situações, três replicatas independentes de seis soluções com concentrações diferentes foram preparadas, sem pontos de alavancagem, todas dentro da faixa de trabalho definida, mais a solução da amostra sem adição de padrão e o branco. As leituras das absorvâncias foram feitas em ordem aleatória, exceto o branco, este utilizado para ajuste do zero no instrumento de FAAS.

Os dados obtidos para as curvas de calibração em presença da matriz foram avaliados quanto à linearidade. Caso as premissas fossem confirmadas, ambas as curvas eram comparadas.

O teste F bilateral foi utilizado para comparação da homogeneidade dos resíduos para as duas curvas de calibração. O teste F foi utilizado para avaliar as variâncias; se F encontrado fosse $\geq F_{\text{crít}}$ a hipótese de heteroscedasticidade era aceita e se $F < F_{\text{crít}}$, os resíduos eram considerados homoscedásticos³³.

Em caso de homoscedasticidade, os coeficientes angulares e lineares das curvas de calibração obtidas na presença e na ausência e presença da matriz foram comparados pelo teste t , com variâncias combinadas. Se $t \leq t_{\text{crít}}$, a hipótese de não haver efeito de matriz foi aceita³³.

Em caso de heteroscedasticidade, similarmente ao caso anterior, a comparação foi realizada pelo teste t , utilizando-se variâncias amostrais para cada curva. A hipótese de não haver efeito de matriz era aceita quando $t \leq t_{\text{crít}}$ ³³.

5.3.3 Estudo da Exatidão

Para avaliar a exatidão, foram preparados 11 replicatas independentes do material de referência certificado. Na primeira etapa do trabalho foram preparadas onze amostras adicionadas do analito. As concentrações finais de cálcio foram calculadas

através da extrapolação da reta até o encontro com o eixo das abscissas, onde se obteve a concentração do analito a ser adicionado, equivalente a existente na amostra. Na segunda etapa do trabalho, as concentrações foram determinadas contra uma curva de calibração convencional.

A dispersão dos dados obtidos foi avaliada pelo teste de Grubbs. Em caso de ocorrer à presença de um ponto disperso, este foi excluído. No máximo 22% dos pontos podem ser excluídos e o teste ser refeito³⁹. Para avaliar a exatidão utilizou-se o teste z-Score³³, que avalia a premissa de normalidade dos resíduos. Se $|z| < 2$, considera-se que o método em questão apresenta exatidão aceitável. Se $2 < |z| < 3$ a exatidão é questionável. Se $|z| > 3$ o método não é exato³³.

5.4 VOLUMETRIA DE COMPLEXAÇÃO POR EDTA

Para a análise de corretivos de acidez por volumetria (com EDTA), seguiu-se o manual oficial, exceto a massa de amostra utilizada. Esta modificação foi necessária para que as concentrações finais estivessem dentro da faixa de trabalho da FAAS, para posterior comparação.

O método consistiu na digestão prévia da amostra de modo idêntico ao já apresentado para FAAS. A mistura foi transferida para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água. Logo após, a mistura foi filtrada e uma alíquota de 5 mL foi transferida para um erlenmeyer. Neste último foram adicionados 5 mL de solução de KOH e KCN, de concentrações 5 e 1 mol L⁻¹ respectivamente, 50 mL de água e 4 a 6 gotas de calcon (solubilizado numa mistura de metanol e trietanolamina). A titulação foi feita com solução de EDTA 0,020 mol L⁻¹ (padronizada com o padrão primário de CaCO₃). Para cada replicata da amostra, três vias foram preparadas e tituladas. A concentração final correspondeu à média aritmética das concentrações obtidas para cada uma das vias.

5.5 ANÁLISE POR ICP-OES

O cálcio presente nas soluções das amostras digeridas de acordo com o método oficial e o método desenvolvido foi também determinado por ICP OES. Neste caso, apenas uma etapa de diluição foi necessária, sendo que a faixa de concentração da curva de calibração foi 10 a 50 mg L⁻¹ e as soluções de calibração preparadas em água.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 AVALIAÇÃO DO MÉTODO

6.1.1 Linearidade

O intervalo de concentração da curva de calibração que consta no manual oficial do MAPA é 0,0 a 20 mg L⁻¹, compreendendo os pontos 0,0 5,0; 10; 15 e 20 mg L⁻¹. Porém, como a metodologia adotada para verificação da linearidade exige seis concentrações igualmente espaçadas, os pontos da curva escolhidos foram 0,0 1,0; 5,0; 9,0; 13; 17 e 20 mg L⁻¹

A utilização do ponto zero para análise da regressão linear afeta a estimativa dos parâmetros, distorcendo a distribuição dos resíduos e aumentando a variância populacional³⁵. Portanto, o branco foi utilizado apenas para ajustar o zero no espectrômetro de AAS.

Outro aspecto importante é o fato das replicatas não serem a repetição da leitura de uma mesma solução, pois a variância dos resíduos tende a subestimar a variância populacional e, por conseqüência, o teste *lack-of-fit* pode indicar tendências não existentes³⁵. A Tabela 3 apresenta as absorvâncias obtidas para o estudo da linearidade, segundo o intervalo de concentração apresentado no método oficial do MAPA.

Tabela 3. Avaliação da linearidade para o intervalo de concentração de Ca (1,0 a 20 mg L⁻¹), em presença de lantânio.

Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
1,0	0,022	9,0	0,190	17	0,339
1,0	0,021	9,0	0,202	17	0,339
1,0	0,019	9,0	0,187	17	0,345
5,0	0,106	13	0,279	20	0,401
5,0	0,105	13	0,268	20	0,400
5,0	0,099	13	0,267	20	0,395

Os dados obtidos foram avaliados através do teste residual de Jackknife³⁵. Os pontos na Tabela 3 que não se adequaram aos parâmetros (mostrados em vermelho)

foram removidos e a regressão linear recalculada. A Figura 1 mostra a reta obtida através destes dados.

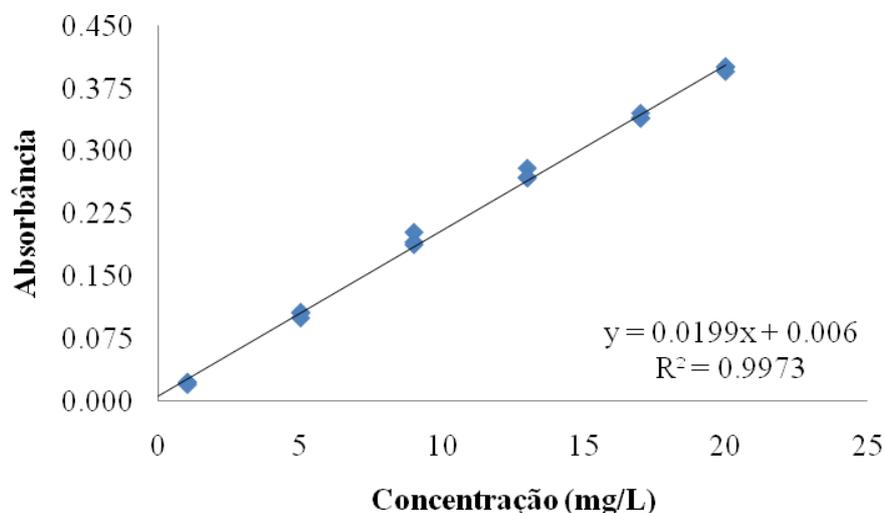


Figura 1. Curva de calibração de cálcio obtida por FAAS, com a adição de lantânio

A premissa de que os resíduos apresentam uma distribuição normal foi confirmada pelo teste de Ryan-Joiner³⁶ e o teste de Durbin-Watson³⁸ confirmou a independência dos mesmos.

O teste Brown-Forsyth³⁷, que avalia a homoscedasticidade, demonstrou que a variabilidade dos resíduos ao longo de todas as concentrações não foi significativa, logo a premissa foi aceita.

A análise de variância demonstrou que a regressão é significativa, porém, mediante o teste *lack-of-fit*³⁵, observou-se que a curva de calibração tinha um desvio de linearidade, demonstrando que o intervalo de concentração não era adequado

Assim sendo, foram utilizadas soluções de calibração mais diluídas, tendo-se em vista o desvio de linearidade observado.

Dessa forma, duas curvas de calibração na faixa de 1,0 a 15 mg L⁻¹ (as concentrações das soluções de calibração eram 1,0; 4,0; 7,0; 10; 13 e 15 mg L⁻¹) foram preparadas. Para uma delas, foi adicionado lantânio às soluções de calibração, com o intuito de estudar a influência do lantânio no sinal do cálcio. A Tabela 4 apresenta os valores de absorbância para as soluções de calibração.

Tabela 4. Avaliação da linearidade para o intervalo de concentração de Ca (entre 1 e 15 mg L⁻¹), com e sem a adição de lantânio.

Com Lantânio					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
1	0,023	7	0,153	13	0,283
1	0,025	7	0,156	13	0,284
1	0,023	7	0,154	13	0,284
4	0,089	10	0,220	15	0,322
4	0,090	10	0,220	15	0,323
4	0,091	10	0,221	15	0,323

Sem Lantânio					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
1	0,031	7	0,215	13	0,388
1	0,026	7	0,215	13	0,386
1	0,026	7	0,214	13	0,383
4	0,125	10	0,306	15	0,448
4	0,124	10	0,302	15	0,441
4	0,123	10	0,304	15	0,440

Os dados mostrados na Tabela 4 foram avaliados mediante o teste Jackknife³⁵, os valores (mostrados em vermelho) que não se adequaram aos parâmetros foram removidos e a regressão linear recalculada. A Figura 2 apresenta a reta obtida através destes dados.

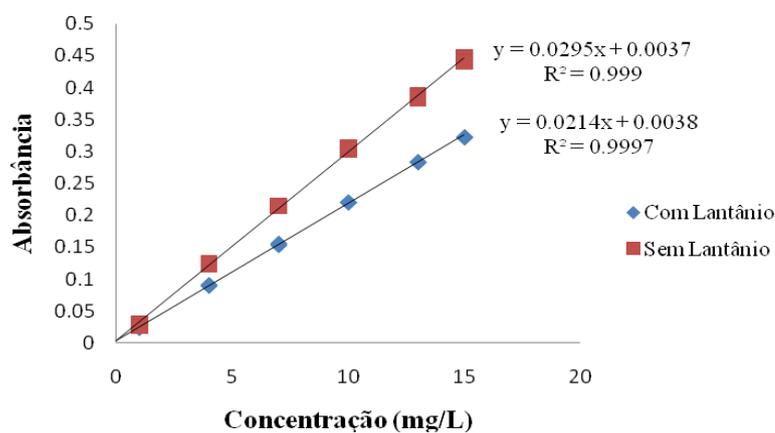


Figura 2. Curvas de calibração de cálcio obtidas por FAAS.

Do mesmo modo que foi observado para a faixa de trabalho estabelecida no método oficial do MAPA, as premissas de homoscedasticidade das variâncias normalidade e independência dos resíduos foram aceitas. Da mesma forma, a ANOVA demonstrou que a regressão é significativa, todavia, o teste *lack-of-fit*³⁵ apresentou um desvio de linearidade, de maneira similar ao primeiro intervalo de concentração estudado.

Ambas as curvas mostradas na Figura 2 possuem um coeficiente de determinação superior a 0.99. Porém, apenas uma análise deste valor não significa que o método fornecerá resultados precisos. Ou seja, o valor de R^2 muito próximo a 1 não é necessariamente o resultado de uma correlação linear, e poderia ser resultado de pontos agrupados em torno de uma ligeira curva³⁵.

Dessa forma, a faixa de concentração foi novamente reduzida de maneira a procurar corrigir esse desvio de linearidade encontrado. As seguintes concentrações foram então estabelecidas: 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10 e 12 mg L⁻¹. A Tabela 5 apresenta os resultados de absorvância obtidos, com e sem a presença de lantânio.

Tabela 5. Avaliação da linearidade para o intervalo de concentração de Ca (entre 2 e 12 mg L⁻¹, com e sem a adição de lantânio.

Com Lantânio					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
2	0,050	6	0,143	10	0,232
2	0,052	6	0,148	10	0,240
2	0,053	6	0,144	10	0,233
4	0,097	8	0,187	12	0,278
4	0,097	8	0,189	12	0,278
4	0,097	8	0,188	12	0,279
Sem Lantânio					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
2	0,062	6	0,182	10	0,299
2	0,060	6	0,180	10	0,298
2	0,060	6	0,178	10	0,300
4	0,120	8	0,239	12	0,356
4	0,122	8	0,242	12	0,354
4	0,121	8	0,239	12	0,358

Os dados mostrados na Tabela 5 foram avaliados pelo teste de Jackknife³⁵. Os valores $J_{ei} > t_{crit}$ (mostrados em vermelho) foram removidos e a regressão refeita. A Figura 3 apresenta a reta obtida através destes dados.

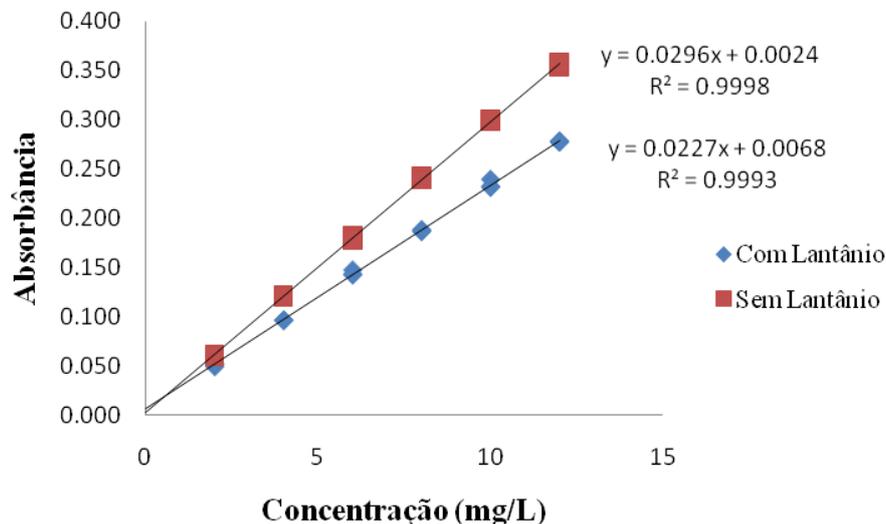


Figura 3. Curvas de calibração de cálcio obtidas por FAAS, com e sem adição de lantânio.

As premissas de homoscedasticidade das variâncias, independência e normalidade dos resíduos foi aceita. Ambas as curvas de calibração apresentaram uma regressão linear significativa pela ANOVA e não apresentaram desvios de linearidade pelo teste *lack-of-fit*³⁶.

Portanto, de acordo com os resultados obtidos, nas condições de trabalho apresentadas, o método oficial não apresenta uma relação linear em toda sua faixa de trabalho. Assim sendo, para o restante do trabalho, a faixa de concentração ficou definida como 2 a 12 mg L⁻¹. Não houve indícios de que a linearidade pudesse ser influenciada pela ausência do lantânio.

6.1.2 Efeito de Matriz

Para avaliação do efeito de matriz curvas de calibração preparadas, na ausência e presença de matriz, foram obtidas e seus coeficientes angulares e lineares comparados. A amostra utilizada neste estudo foi o material de referência certificado (MRC). Assim

sendo, as quantidades de analito adicionadas ficaram no intervalo de 1 a 6 mg L⁻¹, para que a concentração máxima final não excedesse a faixa linear.

Os pontos descartados (mostrados em vermelho na Tabela 7) são aqueles apontados pelo teste residual de Jackknife³⁶ e, em ambas as situações, com e sem adição de lantânio, a curva de calibração preparada na presença da matriz foi linear.

A Tabela 6 apresenta os valores de absorvância obtidos.

Tabela 6. Absorvância das soluções de calibração de Ca na presença e ausência da matriz da amostra, com a adição de lantânio.

Sem matriz					
Concentração (mg/L)	Absorvância	Concentração (mg/L)	Absorvância	Concentração (mg/L)	Absorvância
2	0,129	6	0,361	10	0,553
2	0,134	6	0,361	10	0,554
2	0,133	6	0,361	10	0,552
4	0,250	8	0,459	12	0,641
4	0,247	8	0,462	12	0,642
4	0,257	8	0,457	12	0,641
Com matriz					
Concentração (mg/L)	Absorvância	Concentração (mg/L)	Absorvância	Concentração (mg/L)	Absorvância
5,53	0,323	7,53	0,424	9,53	0,511
5,53	0,320	7,53	0,418	9,53	0,512
5,53	0,318	7,53	0,415	9,53	0,511
6,53	0,369	8,53	0,417	10,53	0,560
6,53	0,365	8,53	0,470	10,53	0,558
6,53	0,369	8,53	0,467	10,53	0,554

A premissa de homoscedasticidade foi descartada pelo teste F e, portanto, foi aceita a hipótese de heteroscedasticidade. Na etapa seguinte, a comparação das variâncias amostrais pelo teste t demonstrou que não houve efeito da matriz no coeficiente linear, mas ela influenciou o coeficiente angular. A Figura 4 apresenta as curvas de calibração resultantes dos dados da Tabela 6.

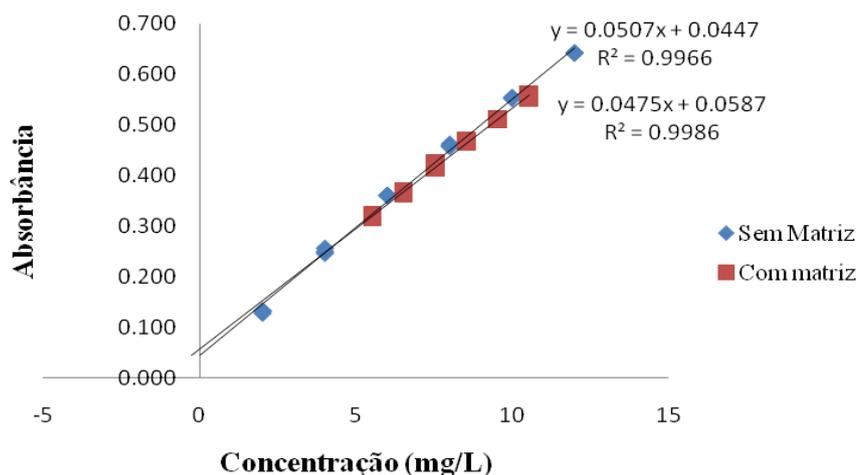


Figura 4. Curvas de calibração de Ca obtidas por FAAS na presença de lantânio.

Da mesma forma que foi feito para avaliar a linearidade, foram obtidas curvas de calibração sem a adição do lantânio. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 7. Esses dados foram avaliados pelo teste F e a hipótese de heteroscedasticidade foi confirmada. A análise das variâncias amostrais pelo teste t indicou que existia uma influência da matriz em ambos os coeficientes linear e angular.

A Figura 5 apresenta as curvas de calibração obtidas a partir dos dados da Tabela 7.

Tabela 7. Efeito da matriz no sinal do Ca, sem a adição de lantânio.

Sem matriz					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
2	0,177	6	0,451	10	0,679
2	0,174	6	0,448	10	0,671
2	0,175	6	0,442	10	0,680
4	0,334	8	0,565	12	0,780
4	0,330	8	0,558	12	0,739
4	0,331	8	0,560	12	0,794
Com matriz					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
5,53	0,427	7,53	0,543	9,53	0,660
5,53	0,427	7,53	0,542	9,53	0,658
5,53	0,427	7,53	0,540	9,53	0,651
6,53	0,492	8,53	0,595	10,53	0,710
6,53	0,486	8,53	0,619	10,53	0,708
6,53	0,490	8,53	0,601	10,53	0,717

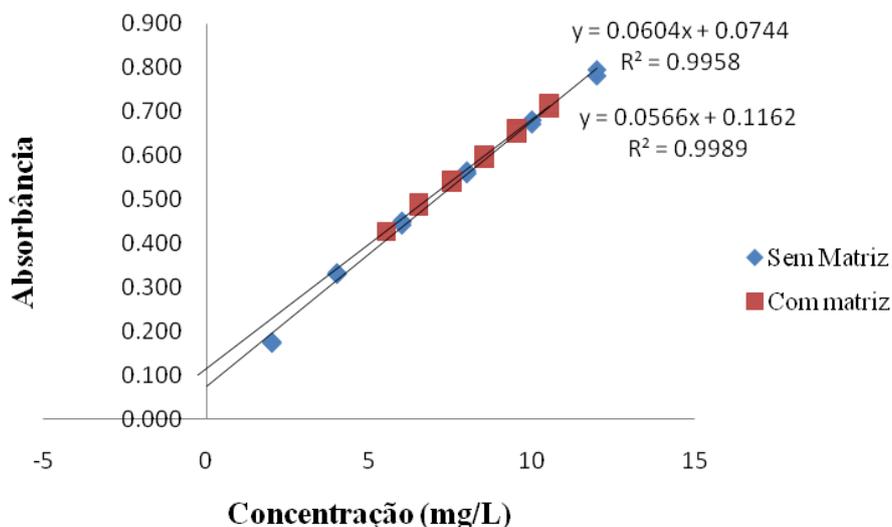


Figura 5. Curvas de calibração de Ca obtidas por FAAS na ausência de lantânio.

De acordo com os resultados obtidos, nas condições da metodologia oficial, a matriz estudada apresenta interferência na quantificação do cálcio. Desta forma, uma curva de calibração construída em água, tal qual prevê o método oficial, não é recomendada, pois poderia ocasionar desvios na absorvância do cálcio.

Este fato deve-se à presença de interferentes na matriz do corretivo de acidez. Na amostra em questão há presença considerável de silicatos, que na literatura^{5,6,7} é citado como possível interferente na determinação de cálcio por FAAS, com chama ar-acetileno.

Dessa forma, nas quantificações subsequentes procurou-se eliminar o efeito de matriz, mediante calibração por adição de padrão.

6.1.3 Exatidão

Para o estudo da exatidão do método em questão, foi utilizado o material de referência certificado e a adição de padrão foi feita apenas na última etapa da diluição. Desse modo, reduziu-se o tempo de preparo das amostras, tornando-se o método viável para execução rotineira.

Nesta etapa, não se avaliou a variância residual, tendo-se em vista que a linearidade da curva de calibração na presença da matriz já havia sido comprovada.

As Tabelas 8 e 9 apresentam as recuperações obtidas nos primeiros testes feitos para avaliar a exatidão do método, com adição de padrão, com e sem a adição de lantânio.

Nos experimentos realizados na presença de lantânio obteve-se uma recuperação média de 118% e no experimento conduzido sem este a recuperação média foi de 117%. Segundo a literatura³³, estas recuperações são superiores ao que é considerável aceitável. Com isto ficou evidente que havia interferência e, mesmo com a adição de padrão, esta interferência não foi corrigida.

Tabela 8. Concentrações de Ca determinadas em corretivo de acidez do solo por FAAS mediante calibração por adição de padrão em presença de lantânio.

Amostra	% de CaO	Rec. (%)	Amostra	% de CaO	Rec. (%)	Amostra	% de CaO	Rec. (%)
1	65,73	124	4	63,45	120	7	62,26	117
2	64,33	121	5	60,45	114	8	58,86	111
3	61,92	117	6	63,07	119	9	61,71	116
MRC			52,85					

Rec.: recuperação; MRC: Material de referência certificado

Tabela 9. Concentrações de Ca determinadas em corretivo de acidez do solo por FAAS mediante calibração por adição de padrão sem adição de lantânio.

Amostra	% de CaO	Rec. (%)	Amostra	% de CaO	Rec. (%)	Amostra	% de CaO	Rec. (%)
1	58,97	111	4	60,51	114	7	56,42	106
2	59,32	112	5	61,80	116	8	71,74	135
3	61,04	115	6	68,87	130			
MRC			52,85					

Rec.: recuperação; MRC: Material de referência certificado

De acordo com as Tabelas 8 e 9, a calibração por adição de padrão e adição de lantânio não proporcionaram a obtenção de resultados exatos. Dessa forma, os dados obtidos indicaram que o método oficial para determinação cálcio em corretivos de acidez não é recomendável, pois não considera os efeitos de matriz nem os desvios de linearidade demonstrados. Portanto, é necessária uma revisão da metodologia oficial.

Para verificar se as concentrações superestimadas observadas para o material certificado se repetiam em amostras reais, foi realizada uma comparação entre a

volumetria de complexação com EDTA e FAAS, ambas presentes no manual de métodos oficiais do MAPA.

As amostras de corretivos de acidez analisadas são fabricadas no estado do Rio Grande do Sul, contendo faixa ampla de teores de cálcio. Os dados obtidos na análise são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Comparação dos resultados obtidos mediante as técnicas recomendadas pelo MAPA para determinação de cálcio em corretivos de acidez do solo.

Amostra	Volumetria por EDTA				FAAS				Rec (%)
	Repl.	% CaO	Média	DP	Repl.	% CaO	Média	DP	
A	1	52,3			1	54,9			
	2	52,3	52,4	0,2	2	56,1	55,7	0,7	107
	3	52,6			3	56,2			
B	1	44,1			1	50,0			
	2	44,0	44,7	1,2	2	48,7	48,7	1,3	108
	3	46,1			3	47,3			
C	1	25,3			1	29,4			
	2	25,3	25,0	0,5	2	29,8	29,5	0,2	119
	3	24,4			3	29,4			
D	1	39,2			1	41,9			
	2	38,1	38,0	1,3	2	41,1	41,7	0,5	108
	3	36,6			3	41,9			
E	1	28,4			1	34,1			
	2	27,7	28,1	0,4	2	33,6	33,8	0,3	119
	3	28,3			3	33,8			
F	1	45,5			1	49,9			
	2	44,0	44,4	0,9	2	49,8	49,8	0,1	112
	3	43,8			3	49,7			
G	1	38,8			1	42,9			
	2	38,4	38,5	0,2	2	43,1	43,1	0,2	111
	3	38,4			3	43,3			

Repl.: replicatas, Média : média aritmética, DP: desvio padrão, Rec: recuperação

De acordo com a Tabela 10, os dados obtidos indicam que o método presente no manual oficial para determinação de cálcio por FAAS superestima a concentração de cálcio em cerca de 10%.

6.2 DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA

Tyson e colaboradores⁷ descrevem que a determinação de cálcio em solos por FAAS com a chama ar-acetileno sofre interferências do silício presente e propõem a eliminação deste antes da determinação do Ca. Os autores também comentam que se for utilizada a chama óxido nitroso-acetileno, a interferência pelo silício é menor.

Sotera e colaboradores⁵ realizaram, para o cimento, digestão envolvendo a adição de ácido fluorídrico e, mesmo assim, ainda notaram supressão do sinal do Ca frente à chama ar-acetileno.

Desse modo, o processo de digestão proposto neste trabalho para o corretivo de acidez do solo envolveu a eliminação do Si através de uma pré-digestão com ácido fluorídrico. Os resultados obtidos mediante este método de preparo da amostra demonstraram que a linearidade do método não foi modificada, e, portanto, a faixa de trabalho foi mantida.

6.2.1 Efeito de Matriz

Da mesma forma que nos experimentos anteriores, as curvas de calibração obtidas na presença de matriz foram testadas em relação às premissas de linearidade, e os pontos não adequados (mostrados em vermelho) foram removidos e a regressão refeita. As Tabelas 11 e 12 apresentam os valores de absorvância obtidos para as curvas de calibração na presença ou ausência de matriz e presença ou ausência de lantânio. As curvas de calibração obtidas são mostradas nas Figuras 6 e 7.

Segundo o teste F, a heteroscedasticidade foi aceita para os dados experimentais obtidos na ausência de lantânio e a homoscedasticidade para os dados obtidos na presença deste.

Segundo o teste t, a matriz não influenciou nos coeficientes angulares das curvas de calibração para ambas as situações, ou seja na presença ou ausência de lantânio, porém, na ausência do lantânio, a matriz influenciou no coeficiente linear.

Logo, a adição deste componente nas determinações de cálcio em corretivos de acidez por FAAS nestas condições experimentais faz-se necessária.

Tabela 11. Valores de absorvância obtidos para Ca na presença e ausência da matriz da amostra tratada com ácido fluorídrico, sem a adição de lantânio.

Sem matriz					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
2	0,054	6	0,203	10	0,328
2	0,057	6	0,203	10	0,305
2	0,054	6	0,194	10	0,316
4	0,136	8	0,271	12	0,381
4	0,125	8	0,270	12	0,380
4	0,125	8	0,261	12	0,380

Com matriz					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
6,08	0,216	8,08	0,287	10,08	0,350
6,08	0,221	8,08	0,289	10,08	0,350
6,08	0,227	8,08	0,290	10,08	0,357
7,08	0,256	9,08	0,320	11,08	0,385
7,08	0,255	9,08	0,322	11,08	0,383
7,08	0,260	9,08	0,321	11,08	0,386

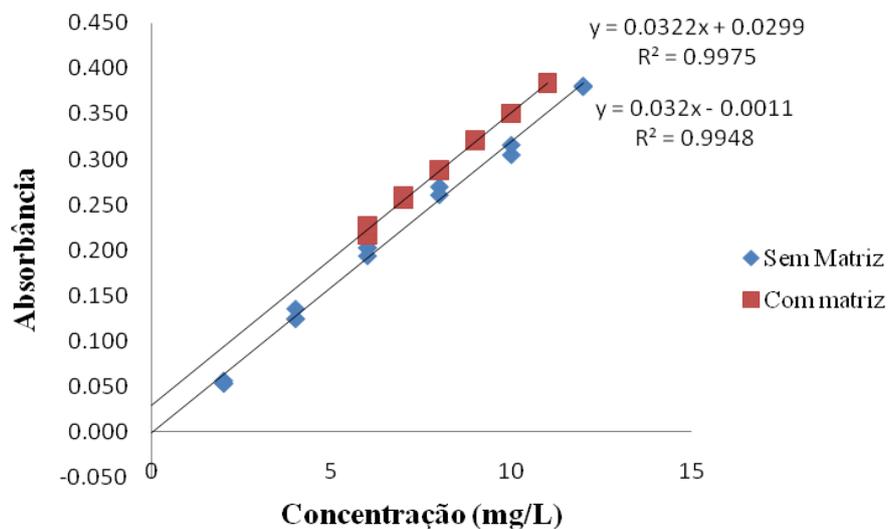


Figura 6. Comparação das curvas de calibração de Ca obtidas por FAAS, sem a adição de lantânio. A amostra foi tratada com ácido fluorídrico.

Tabela 12. Valores de absorvância obtidos para Ca na presença e ausência da matriz da amostra tratada com ácido fluorídrico, com a adição de lantânio.

Sem matriz					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
2	0,050	6	0,151	10	0,230
2	0,051	6	0,152	10	0,245
2	0,053	6	0,156	10	0,252
4	0,100	8	0,178	12	0,293
4	0,103	8	0,200	12	0,296
4	0,106	8	0,204	12	0,299
Com matriz					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
6,08	0,156	8,08	0,206	10,08	0,255
6,08	0,158	8,08	0,210	10,08	0,253
6,08	0,158	8,08	0,227	10,08	0,264
7,08	0,183	9,08	0,234	11,08	0,279
7,08	0,185	9,08	0,235	11,08	0,282
7,08	0,190	9,08	0,246	11,08	0,297

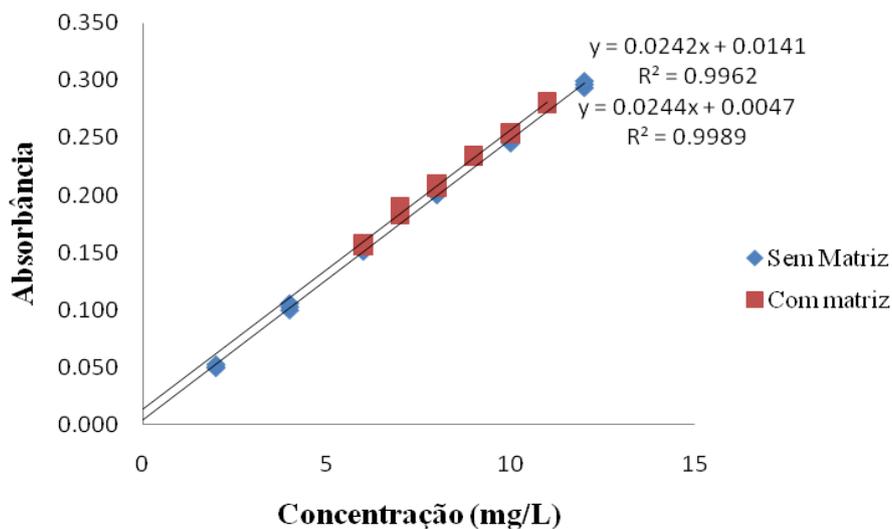


Figura 7. Comparação das curvas de calibração de Ca obtidas por FAAS, com a adição de lantânio. A amostra foi tratada com ácido fluorídrico.

6.2.2 Exatidão

Para avaliação da exatidão do método, onze replicatas independentes do material certificado foram preparadas e a concentração de cálcio determinada. Nas soluções de calibração e amostra foi adicionado lantânio. A Tabela 13 apresenta os valores obtidos. A recuperação média foi 101% e o desvio padrão 2%. O teste de dispersão de Grubbs³⁹ foi realizado e os pontos dispersos (mostrados em vermelho) foram descartados. Pelo teste de Ryan-Joiner³⁵ verificou-se que a dispersão dos resíduos era normal e pelo teste z-score a premissa de exatidão foi aceita. Assim sendo, considerou-se exato o método desenvolvido.

Tabela 13. Teores de cálcio encontrados no material de referência certificado e recuperações obtidas mediante a metodologia desenvolvida

Amostra	% de CaO	Rec. (%)	Amostra	% de CaO	Rec. (%)	Amostra	% de CaO	Rec. (%)
1	53,06	100	5	47,54	90	9	50,87	96
2	53,27	101	6	53,58	101	10	54,69	104
3	53,27	101	7	53,68	102	11	40,05	76
4	53,70	102	8	54,93	105	MRC:	52,85 ± 0,16	-

Rec: Recuperação do analito; MRC: Material de referência certificado

6.3 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS

O material de referência certificado foi analisado em triplicata pelos métodos oficial, volumetria de complexação com EDTA, desenvolvido neste trabalho e ICP OES, esta citada como a técnica utilizada para certificação do material de referência utilizado. A Tabela 14 mostra os resultados obtidos pelos diferentes métodos.

Tabela 14. Concentrações médias de Ca determinadas em material de referência certificado (corretivo de acidez de solo). Valor de CaO certificado: $52,85 \pm 0,16 \%$

Métodos	% de Ca	Recuperação (%)
FAAS - MO	59,17	112
FAAS - HF	53,70	101
EDTA	53,24	101
ICP OES	53,58	102

MO: Método oficial, HF: Método desenvolvido, EDTA: volumetria com EDTA.

Avaliados pelo teste t , com 95% de confiança, os dados obtidos mostrados na Tabela 14 sugerem que o método oficial de determinação de cálcio por FAAS superestima o teor deste elemento. A média dos resultados obtidos mediante os outros métodos estão no mesmo intervalo de confiança.

6.4 AVALIAÇÃO DE CUSTOS

6.4.1 Custos da Validação

Mundialmente, milhares de medidas são realizadas todos os dias em laboratórios químicos, para diversas finalidades, envolvendo desde bens de troca até a qualidade da água potável. Diversos setores da sociedade dependem dos resultados obtidos através dessas análises²⁹.

Os custos das medidas são altos e, ainda maiores, se forem contabilizados os custos relacionados às conseqüências das decisões baseadas nestes resultados. Portanto, é claramente importante que o resultado obtido seja correto e que a exatidão possa ser demonstrada²⁹.

O processo de validação tem seu custo, porém deve-se enxergá-lo como um investimento e não como uma despesa, tendo-se em vista as exigências atuais, da fiscalização, de órgãos acreditadores e até mesmo para se ter uma visão futura de mercado¹⁰.

6.4.2 Avaliação do Método Oficial

Através dos dados obtidos neste trabalho, foi demonstrado que o método oficial utilizado pelo MAPA para determinação de cálcio em corretivos de acidez por FAAS pode superestimar o teor desse elemento. Assim sendo, um produto que não possui o teor mínimo de óxido requerido por lei, pode, ao ser fiscalizado por FAAS, ser aceito e chegar até o consumidor final.

Um produto fiscalizado mediante análise por volumetria de complexação com EDTA poderá ser recusado, porque a concentração de óxidos encontrada é menor do que a requerida oficialmente. No entanto, se uma segunda análise do produto for feita, mediante FAAS, o produto poderá ser aceito porque a concentração de óxidos será maior, haja vista a super estimação da concentração de cálcio encontrada. Por outro lado, um produtor que garante o teor mínimo de cálcio no corretivo de acidez através de análise por FAAS, poderá ser multado se o seu produto for fiscalizado através da determinação de cálcio por volumetria com EDTA.

Os valores das multas podem variar de acordo com o grau de deficiência apresentado na soma de óxidos do corretivo de acidez, sendo que estes valores podem variar de R\$ 380,00 a R\$ 19.000,00.

Um corretivo de acidez deficiente em cálcio pode ocasionar uma calagem mais branda e, dessa forma, não corrige o pH do solo, deixando-o não adequado para o cultivo.

6.4.3 Comparação entre Técnicas

Os custos relacionados com a metodologia desenvolvida são resumidos na Tabela 15 ^{40,41}.

Considerando uma curva de calibração de seis concentrações e 10 amostras, o custo total de reagentes é cerca R\$ 8,00.

Portanto, a execução da metodologia desenvolvida é de baixo custo. No entanto, a sua implementação demanda custos mais altos por causa dos equipamentos envolvidos.

Tabela 15. Custos para implementação da metodologia desenvolvida.

Reagentes	Custo, R\$
Ácido clorídrico, 1 L	19,80
Ácido fluorídrico, 1 L	42,00
Óxido de lantânio, 500 g	125,00
Solução padrão de cálcio	350,00
Carbonato de cálcio, 1 Kg	3,90
Equipamentos	
Bloco digestor	2.500,00
Espectrômetro de FAAS	100.000,00
Frasco de PTFE (12 unidades)	4.500,00
Balança	3.000,00
Vidraria	
Balão volumétrico, 20	600,00
Béquer copos béquer, 6	42,00
Total	111.182,70

Os custos relacionados na volumetria de complexação com EDTA são resumidos na Tabela 16^{40,41}.

Tabela 16. Custos relacionados com a execução do método volumétrico (complexometria com EDTA)

Reagentes	Custo, R\$
Ácido clorídrico, 1 L	19,80
Hidróxido de potássio, 1 Kg	44,00
EDTA, sal, 1 Kg	43,00
Cianeto de potássio, 250 g	15,00
Carbonato de cálcio, 1 Kg	3,90
Calcon, 50 g	25,00
Vidraria	
Bureta, 50 mL	384,00
Balão volumétrico, 5	150,00
Béquer copos béquer, 5	35,00
Frascos Erlenmeyer, 5	75,00
Equipamentos	
Balança	3.000,00
Chapa aquecedora	2.000,00
Total	5.774,70

Para as 10 amostras o custo pelo método de volumetria de complexação com EDTA é cerca de R\$ 3,00.

Portanto, comparando-se os custos mostrados nas Tabelas 15 e a Tabela 16, o método volumétrico é de menor custo. Porém, o tempo de execução da análise por FAAS (método desenvolvido) é menor. E isto é de grande relevância quando um número elevado de amostras é analisado.

7. CONCLUSÃO CRÍTICA

O método para determinação de cálcio para corretivos de acidez do solo por FAAS apresentado no manual oficial mostrou-se, mediante os experimentos realizados, inadequado para o seu fim, pois não considera os possíveis interferentes existentes na matriz de corretivo.

Os resultados experimentais obtidos neste trabalho apontam que a utilização desse método na fiscalização feita pelo MAPA pode beneficiar empresas cujos produtos não estejam dentro dos valores de tolerância estipulados pela legislação em vigor, pois este método pode superestimar em cerca de 10% o teor de cálcio em corretivos de acidez.

A eliminação do silício e a adição de lantânio fazem-se necessárias para determinação de cálcio por FAAS, com chama ar-acetileno.

Uma nova metodologia foi desenvolvida, buscando a eliminação da interferência causada pelo silício presente na matriz da amostra. A eficiência do método foi testada frente a um material de referência certificado e técnicas independentes.

Os custos envolvidos na execução do método oficial, por FAAS, que pode superestimar a concentração do analito, foram mostrados. Os reais custos à sociedade, principalmente ao agricultor, devido a possíveis falhas na fiscalização, decorrentes do uso de uma metodologia inadequada, são inestimáveis. O custo da perda arrecadatória, referente a multas que não foram cobradas por causa do valor superestimado que levou a uma falsa conformidade às tolerâncias legais, só pode ser calculado com o acesso direto aos inúmeros processos envolvidos. Tal procedimento não é possível porque os dados das análises são confidenciais.

Comparando-se o custo-benefício dos métodos volumétrico (volumetria de complexação com EDTA) e espectrométrico (FAAS), que foi desenvolvido, conclui-se que este é vantajoso para laboratórios com intensa rotina de trabalho. No entanto, a sua implementação demanda custos mais altos por causa da aquisição dos equipamentos necessários.

8. PERSPECTIVAS

Como perspectivas de trabalho estão a continuação da validação da metodologia desenvolvida, quanto aos parâmetros de precisão e seletividade, avaliar os interferentes e mecanismos, também a utilização da FAAS com chama de óxido nitroso-acetileno; avaliação do método oficial para determinação de magnésio em corretivos de acidez por FAAS e sua validação, pois também é uma extensão do escopo da metodologia para fertilizantes; e o desenvolvimento de uma metodologia para determinação de cálcio, magnésio e contaminantes presentes em corretivos de acidez pela técnica de ICP OES.

9. BIBLIOGRAFIA

1. BRASIL, Instrução Normativa SDA N° 28 de Julho de 2007, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
2. SEGADE, S. R.; BUGALLO, R. A.; GÓMEZ, E. F.; Comparison of slurry sampling and microwave-assisted digestion for calcium, magnesium, copper, iron and zinc determination in fish tissue samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 72, 60-65, 2007.
3. CARNEIRO, M. T. W. D.; LYRA, F. H.; BRANDÃO, G. P.; PESSOA, H. M.; CASTRO, E. V.; Determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel samples by flame Determination of calcium, magnesium and strontium in soils by flow injection flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 50, 929-937, 1999.
8. VERAS, M. C. M. (Org.); Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos. Capítulo II. Brasília: MAPA/SDA/CGAL. 2007.
atomic absorption spectrometry (FAAS) using microemulsion as sample preparation. *Microchemical Journal*, 96, 180-185, 2010.
4. KOSCIELNIAK, P.; Kozak, M.; Examination of interferences in flame atomic absorption spectrometry using a flow injection technique. *Analytica Chimica Acta*, 438, 187-194, 2001
5. SOTERA, J. J.; DULUDE, G. R.; KAHN, H. L.; Determination of calcium in cement by flame atomic absorption spectrometry with strontium as internal standard. *Analytical Chemistry*, 53, 2100-2102, 1981.
6. KMETOV, V.; STEFANOVA, V.; HRISTOZOV, D.; GEORGIEVA, D.; CANALS, A.; Determination of calcium, iron and magnesium in moss by automated discrete sampling flame atomic absorption spectrometry as an alternative to the ICP-MS analysis. *Talanta*, 59, 123-136, 2003.
7. TYSON, J. F.; ARSLAN, Z.;
9. GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. A.; A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *Trends in Analytical Chemistry*, 26, 227-238, 2007.
10. ALBANO, F. M.; RAYA-RODRIGUES, M. T.; Validação e Garantia da Qualidade de Ensaios Laboratoriais. Rede Metrológica, RS, Porto Alegre, 2009.

11. MALAVOLTA, E.; Manual de Química Agrícola – Adubos e Adubação. 3ª Edição. Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 1981
12. VITTI, G. C.; LUZ, P. H. C.; Utilização Agronômica de Corretivos Agrícolas. Piracicaba: FEALQ-GAPE, 2001.
13. MALAVOLTA, E.; Manual de Química Agrícola – Nutrição de Plantas e Fertilidade do Solo. Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 1976.
14. MALAVOLTA, E.; Seminário sobre Corretivos Agrícolas. Capítulo 1. Fundação Cargill, Piracicaba, 1985.
15. ALEXANDER, M.; Introduction to Soil Microbiology. 2nd ed, John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1977.
16. THOMPSON, L. M.; Soils and Soil Fertility. 2nd ed, McGraw Hill Book, Nova Iorque, 1957.
17. ALCARDE, J. C.; Corretivos da Acidez dos Solos – Características e Interpretações Técnicas. São Paulo, ANDA, 26p. (ANDA, Boletim Técnico, 6), 1992
18. ALCARDE, J. C.; Seminário sobre Corretivos Agrícolas. Capítulo 2. Fundação Cargill, Piracicaba, 1985.
19. BOYNTON, R. S.; Chemistry and Technology of Lime and Limestone. Interscience Publishers, Nova Iorque, 1966.
20. BRASIL, Lei N° 6.138 de 8 de novembro de 1974, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
21. BRASIL, Decreto N° 75.583 de 9 de Abril de 1975, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
22. BRASIL, Lei N° 6.894 de 16 de Dezembro de 1980, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
23. BRASIL, Decreto N° 86.955 de 18 de Fevereiro de 1982, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
24. BRASIL, Portaria N° 31 de 8 de Junho de 1982, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
25. Site da AOAC-OMA, <http://www.eoma.aoac.org/methods/>, acessado em 19 de junho de 2011.
26. BRASIL, Instrução Normativa N° 35 de 4 de Julho de 2006, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

27. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRAS DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO/IEC 17025: Requisitos gerais de competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2005.
28. ARAÚJO, P.; Key aspects of analytical validation and linearity evaluation. *Journal of Chromatography B*, 877, 2224-2234, 2008.
29. EURA-CHEM; The fitness for purpose of analytical methods. EURACHEM guide, United Kingdom, 1998.
30. Site da AOAC, <http://www.aoac.org/>, acessado no dia 20 de junho de 2011.
31. Site da ASTM, <http://www.astm.org/>, acessado no dia 20 de junho de 2011.
32. Site da EURACHEM, <http://www.eurachem.org/>, acessado em dia 20 de junho de 2011.
33. FENILLE, R. C.; CRUVINEL, A. R.; DUARTE, C. F.; Instrução de Trabalho – Validação Intralaboratorial de Métodos de Ensaio. Código IT UGQ-005, Laboratório Nacional Agropecuário em Goiás, SDA/CGAL/MAPA.
34. CIENFUEGOS, F.; Estatística aplicada ao laboratório. Editora Interciência, Rio de Janeiro, 2005.
35. JUNQUEIRA, R. G.; SOUZA, S. V. C.; A procedure to assess linearity by ordinary least square method. *Analytica Chimica Acta*, 552, 25-35, 2005.
36. RYAN, T. A.; JOINER, B. L.; Normal probability plots and tests for normality. The Pennsylvania State University, State College, p.15, 1976.
37. BROWN, M. B.; FORSYTHE, A. B.; Robusts tests for the equality of variances. *Journal of American Statistical Association*, 69, 364-367, 1974.
38. DURBIN, J.; WATSON, G. S.; Testing for Serial Correlation in Least Square Regression. *Biometrika*, 38, 159-177, 1951.
39. BURKE, S. Missing values, outliers, robusts statistics and non-parametric methods. LC GC – Europe Support Online, 19-24, 2001.
40. Site do Comprasnet, <http://www.comprasnet.gov.br/>, acessado no dia 13 de julho de 2011.
41. Site da Quimibrás, <http://www.quimibras.com.br/>, acessado no dia 13 de julho de 2011.

ANEXO I - Cálculo da Linearidade

A metodologia para avaliação da linearidade foi proposta por Junqueira e colaboradores³⁶. Os cálculos estatísticos estão contextualizados por resultados experimentais obtidos neste trabalho.

1. Dados da Curva

Os dados da curva de calibração de 2 a 12 mg/L, com a adição de lantânio, estão apresentados na Tabela 1A.

Tabela 1A. Absorbâncias obtidas para avaliação da linearidade.

Com Lantânio					
Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância	Concentração (mg/L)	Absorbância
2	0,050	6	0,143	10	0,232
2	0,052	6	0,148	10	0,240
2	0,053	6	0,144	10	0,233
4	0,097	8	0,187	12	0,278
4	0,097	8	0,189	12	0,278
4	0,097	8	0,188	12	0,279

2. Parâmetros

$$Y_i = AX_i + B + E$$

Onde: Y_i é a variável dependente; X_i é a variável independente; A é o coeficiente angular, B é o coeficiente linear; e E é o resíduo.

$$y_i = ax_i + b$$

Onde: y_i é o valor previsto da variável dependente; x_i é o valor conhecido de concentração; a é a estimativa do coeficiente angular; e b é a estimativa do coeficiente linear.

$$a = \frac{S_{xy}}{S_{xx}}$$

Onde:

$$S_{xy} = \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i - \frac{\sum_{i=1}^n x_i \cdot \sum_{i=1}^n y_i}{n}$$

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}{n}$$

$$X_m = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

$$Y_m = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}$$

Onde: y_i é o sinal medido em x_i ; n é o número de pontos de calibração estudados; X_m é a média aritmética dos valores x_i ; e Y_m é a média aritmética dos valores de y_i .

$$b = Y_m - aX_m$$

$$e_i = y_i - \hat{y}_i$$

Onde e_i é o resíduo.

$$S_a^2 = \frac{S_{res}^2}{S_{xx}}$$

Onde: S_a^2 é a variância do coeficiente angular; e o S_{res}^2 é a variância dos resíduos.

$$Sb^2 = Sres^2 \cdot \frac{\sum_{i=1}^n xi^2}{n \cdot Sxx}$$

Onde: Sb^2 é a variância do coeficiente linear.

$$Sres^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (yi - y_i)^2}{n - 2}$$

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (yi - Ym)^2}{\sum_{i=1}^n (yi - Ym)^2}$$

Onde: R^2 é o coeficiente de determinação.

Desse modo, obteve-se a reta apresentada na Figura 1A.

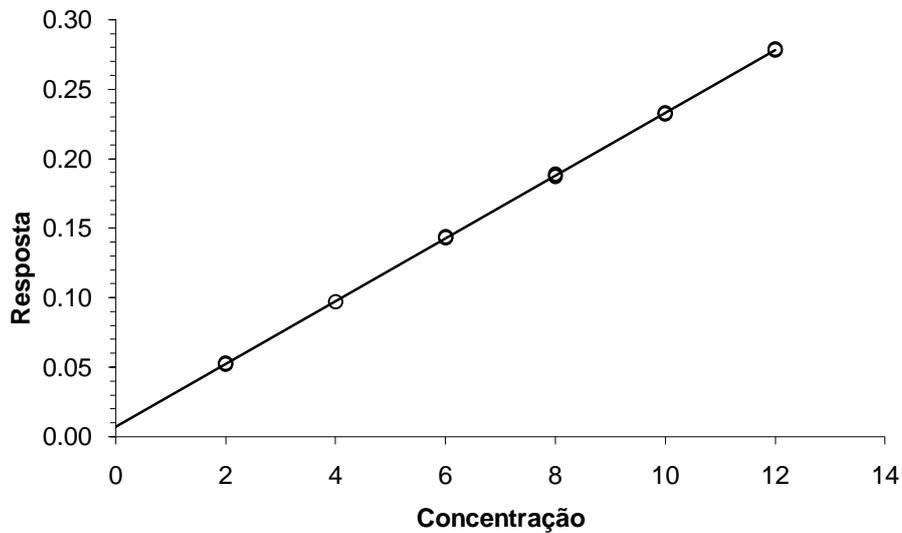


Figura 1A. Curva de Calibração para os pontos 2 a 12 mg/L

Os parâmetros obtidos para este caso são: R^2 é 0,9999; a é 0,227; e b é 0,0068.

3. Tratamento de pontos para o descarte, teste de Jackknife.

$$J_{ei} = r_i \cdot \sqrt{\frac{n-p-1}{n-p-r_i^2}}$$

$$r_i = \frac{e_i}{Se_i}$$

$$Se_i = S_{res} \sqrt{1-H_i}$$

$$H_i = \frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{S_{xx}}$$

Onde: p é um parâmetro do modelo; r_i é o resíduo padronizado; Se_i é o erro do resíduo padronizado e H_i é a influência.

A Figura 2A apresenta o gráfico da distribuição residual. Os pontos marcados em laranja são correspondentes a “outliers”.

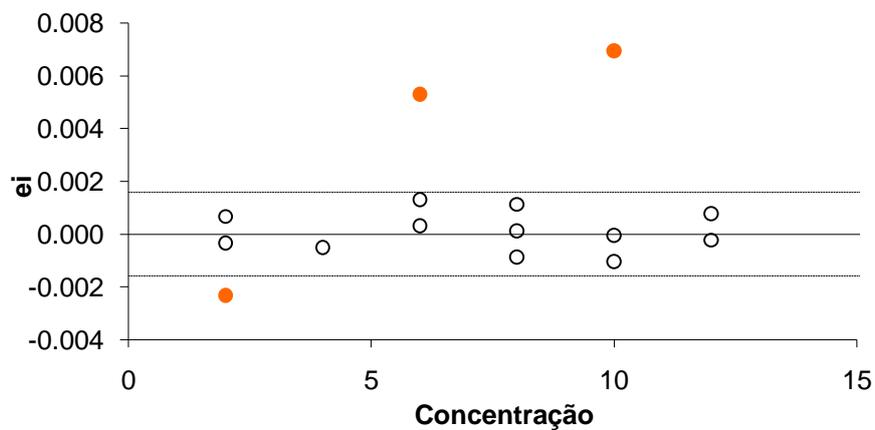


Figura 2A. Distribuição dos resíduos para a curva de calibração de 2 -12 mg/L

4. Normalidade dos Resíduos

A normalidade foi avaliada pelo teste Ryan-Joiner.

$$c_i = N^{-1} \cdot \left(\frac{(i-3/8)}{(n+1/4)} \right), i = 1, \dots, n$$

Onde: c_i é o ponto percentual da distribuição normal padrão; N^{-1} é a função inversa da distribuição normal padrão.

Com esses valores obtidos obtêm-se a reta apresentada na Figura 3A, e seu valor de R comparado aos seguintes termos:

$$R_{crit}(n) \approx 1,007 - \frac{0,1371}{\sqrt{n}} - \frac{0,3682}{n} + \frac{0,7780}{n^2}, \text{ para } \alpha = 0,10$$

$$R_{crit}(n) \approx 1,0063 - \frac{0,1288}{\sqrt{n}} - \frac{0,6118}{n} + \frac{1,3505}{n^2}, \text{ para } \alpha = 0,05$$

$$R_{crit}(n) \approx 0,9963 - \frac{0,0211}{\sqrt{n}} - \frac{1,4106}{n} + \frac{3,1791}{n^2}, \text{ para } \alpha = 0,01$$

Para a curva de 2 a 12 mg/L com a adição de lantânio, os R_{crit} para $\alpha = 0,10$, $0,05$ e $0,01$, foram respectivamente $0,9506$, $0,9383$ e $0,9106$.

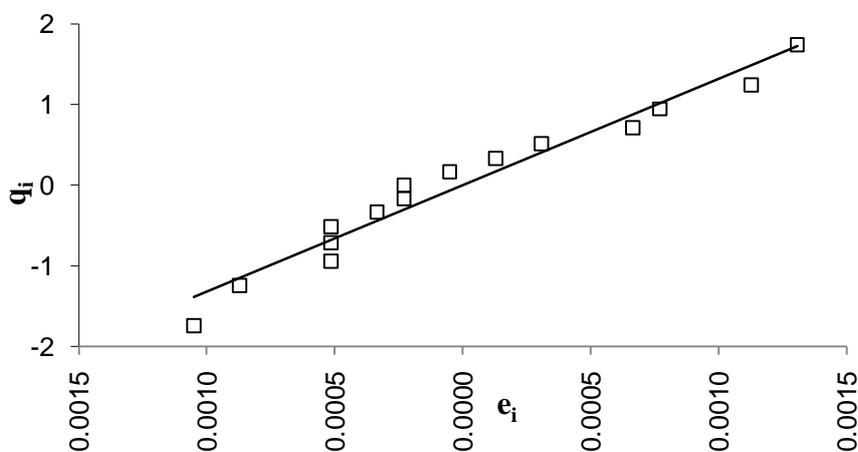


Figura 3A. Distribuição dos resíduos ao longo da reta obtida a partir do teste de Ryan Joiner

Para a curva obtida, o parâmetro R foi de $0,9786$, logo $p > 0,1$, a premissa de normalidade é aceita.

5. Homoscedasticidade dos resíduos

Para avaliação deste parâmetro foi aplicado o Teste de Brown-Forsythe.

$$Tl = \frac{D1m - D2m}{\sqrt{\left(\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2}\right) \cdot Sp^2}}$$

$$Djm = \sum \frac{|Ej - Eij|}{nj}$$

$$Sp^2 = \frac{SSD1 + SSD2}{n1 + n2 - 2}$$

Onde Tl é a estatística t de Levene; Djm é a média das diferenças entre cada resíduo e a mediana de cada grupo j=1 e j=2; nj é o número de observações de cada grupo. Sp² é a variância conjunta; SSDj é a soma dos quadrados dos desvios de Dij de cada grupo.

A comparação entre os desvios médios pode ser feita através da Figura 4A.

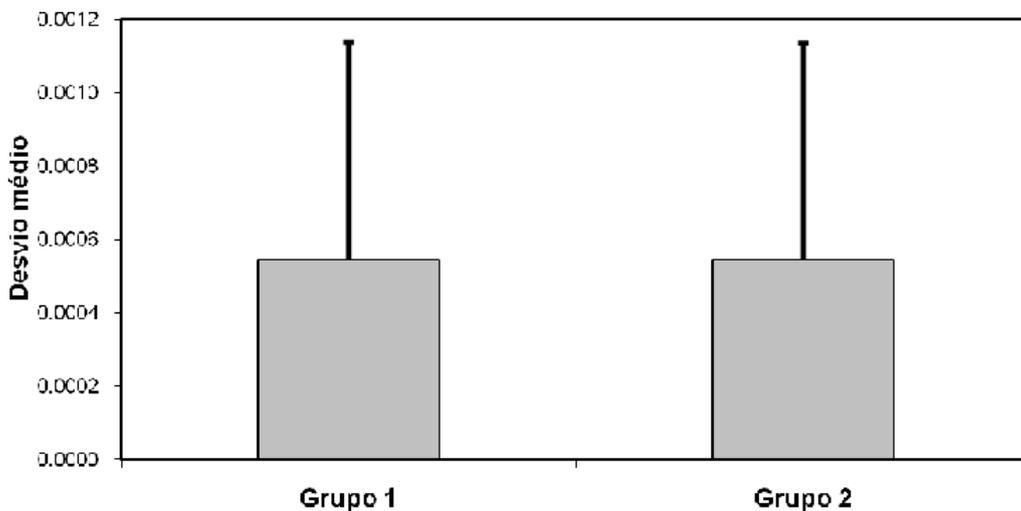


Figura 4A. Comparação entre os desvios médios para avaliação da homoscedasticidade

Como o Tl encontrado não excedeu o Tl crítico, foi aceita a premissa de homoscedasticidade.

6. Independência dos Resíduos

A avaliação da correlação dos resíduos foi feita através do teste de Durbin-Watson.

$$d = \frac{\sum_{i=1}^n (e_i - e_{(i-1)})^2}{\sum_{i=1}^n e_i^2}$$

Para $\alpha = 0,05$:

$$Dl \approx 1,9693 - \frac{2,8607}{\sqrt{n}} - \frac{3,4148}{n} + \frac{16,6400}{n^2}$$

$$Du \approx 1,9832 - \frac{3,0547}{\sqrt{n}} - \frac{1,3862}{n} + \frac{16,3662}{n^2}$$

Para $\alpha = 0,025$:

$$Dl \approx 1,9845 - \frac{3,6875}{\sqrt{n}} - \frac{2,6136}{n} + \frac{20,6393}{n^2}$$

$$Du \approx 1,9480 - \frac{3,1647}{\sqrt{n}} - \frac{0,6472}{n} + \frac{31,5772}{n^2}$$

Para $\alpha = 0,01$

$$Dl \approx 1,9934 - \frac{4,5929}{\sqrt{n}} - \frac{1,3228}{n} + \frac{20,2288}{n^2}$$

$$Du \approx 1,9784 - \frac{4,2974}{\sqrt{n}} - \frac{1,0812}{n} + \frac{29,6862}{n^2}$$

Onde: Dl é a estatística D de intervalo inferior; e Du é a estatística D de intervalo superior.

Para curva estudada não houve correlação positiva, pois d obtido foi 2,46, sendo que o Du para crítico foram de 1,36, 1,26 e 1,07, para α 0,05, 0,025 e 0,01,

respectivamente. Foi negada a correlação negativa comparando-se o d obtido com “4 – D_u ”.

A Figura 5A apresenta a distribuição dos resíduos e_i x $e_{(i-1)}$.

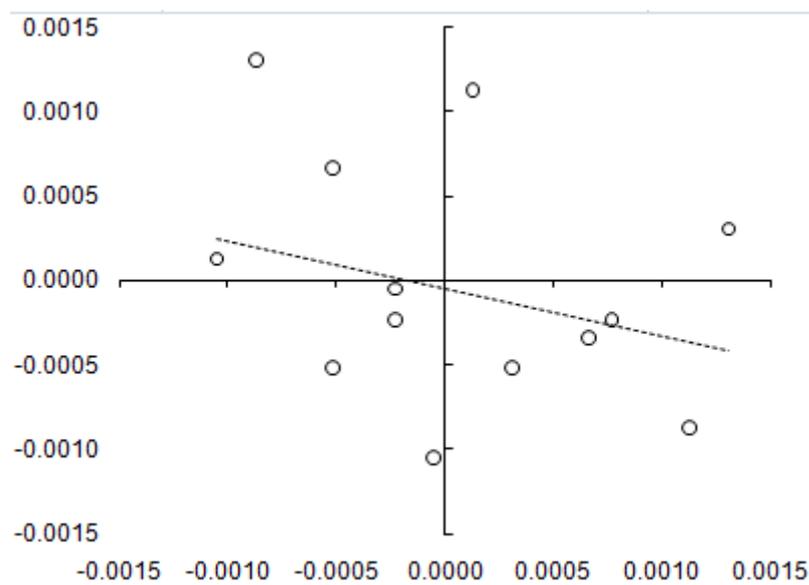


Figura 5A. Distribuição dos resíduos para avaliação da correlação pelo teste de Durbin-Watson