

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAL DE
REFERÊNCIA DE SOLO PARA NUTRIENTES E
CONTAMINANTES INORGÂNICOS**

Tatiane Rosane Verhalen*

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do
título de MESTRE EM QUÍMICA,
área de concentração: QUÍMICA
ANALÍTICA.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira

* bolsista: CAPES/EMBRAPA

**São Carlos - SP
2014**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

V512pc

Verhalen, Tatiane Rosane.

Preparo e caracterização de material de referência de solo para nutrientes e contaminantes inorgânicos / Tatiane Rosane Verhalen. -- São Carlos : UFSCar, 2014.
123 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Química analítica. 2. Material de referência. 3. Solos. 4. ICP-OES. I. Título.

CDD: 543 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado Acadêmico

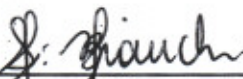
Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de dissertação de mestrado acadêmico da candidata
Tatiane Rosane Verhalen, realizada em 26 de setembro de 2014:



Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira



Dr. Edson Gonçalves Moreira



Dra. Silmara Rossana Bianchi

*“Não importa onde você parou...
em que momento da vida você cansou...
o que importa é que sempre é possível e
necessário recomeçar.”*

(Carlos Drummond de Andrade)

*À Deus, nosso criador e guardião,
pela concessão da fé, indicação dos caminhos
e alegria do dia a dia.*

Dedico

*À minha mãe Rosane,
Ao meu noivo Rodrigo,
À minha Madrinha Rosmeri,
Aos meus avós Albari e Deomira
Aos meus irmãos,
Por estarem sempre ao meu lado, nunca me deixando desistir,
Vocês são fundamentais para que eu conseguisse chegar até aqui....
Com muito amor,
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pelas oportunidades que sempre me apresentou, por ter me permitido aproveitá-las, e principalmente por todas as pessoas que pude conhecer, das quais levo comigo muitos ensinamentos e grandes amizades.

Agradeço à Dr^a. Ana Rita de Araujo Nogueira, pela orientação, paciência, ensinamentos, oportunidade, amizade, e pela dedicação contribuindo de forma valorosa no meu aprendizado durante o trabalho. A ela toda minha admiração, respeito e carinho.

Ao Dr. Gilberto Batista de Souza, pela amizade, sabedoria, paciência, pelos valiosos ensinamentos, conversas, apoio, e conselhos que sempre me motivavam.

Ao Dr. Manuel Antonio Chagas Jacinto, pela amizade, conselhos valiosos, incentivo e me apoiar para o término deste trabalho. E pela oportunidade da bolsa de treinamento técnico concedida.

Ao Prof. Dr. Joaquim Araújo Nóbrega e Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho por toda ajuda, sugestões, críticas e ensinamentos.

Aos colegas do Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA): Raquel, Rodrigo, Jozemir, Lucimar, Carol, Aline, Érica, Amanda Maria, Amanda Augusto, Sidnei, Jomarc, Thiago, José Augusto, Regina, Renato, Juan, Marco Aurélio, Francisco Wendel, Jonatan, Alex, Nayara, Michelle, Alexandra, Jonas e Natividade. Aos ex-GAIAS com os quais convivi: Carlinha, Amália, George, Luana, Silmara, Clarice, Poliana, Renata.

À Carla por toda ajuda, esclarecimento sobre o trabalho.

À Embrapa Pecuária Sudeste por todo o suporte técnico para o desenvolvimento do trabalho.

Aos funcionários da Embrapa, Cidinha, Natal, Mineiro, Marcão, Vitão, Carlos Henrique, Carlos Eduardo, Ane Lysie, que de alguma forma contribuíram para o trabalho e pelos momentos de descontração.

À Karina, Laís e Mariana, pelos momentos de descontração e a amizade no laboratório de couros.

Ao Programa de Pós - Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos.

Aos funcionários do DQ/UFSCar em especial às funcionárias da secretaria da pós-graduação, Ariane, Cristina e Luciani por toda atenção dada nos serviços administrativos.

Às duas mulheres maravilhosas, a minha Mãe e minha Dindinha, pelo exemplo de vida, por me amar incondicionalmente, enfim por tudo que sou.

Aos meus irmãos, Rafael, José Henrique, Luana, Amanda e Miguel. Somos diferentes, mas o amor é maior que tudo.

Ao meu pai, pela confiança, pelo exemplo de vida, pelo amor.

Ao meu Noivo Rodrigo, por todo amparo, amor, incentivo, compreensão, respeito, companheirismo e segurança. Agradeço ainda por ser meu porto seguro, me segurando em seus braços muitas vezes que desanimei e chorei, me tranquilizando com todo seu amor, abraços e palavras doces. Te amo!

Às minhas irmãs de coração Izadora, Karoline, Adriana, Aline, Denise e Marília pelos conselhos, carinho, amizade, por me aguentarem por muito tempo, simplesmente por serem minhas AMIGAS, e foi longe que consegui sentir a força da verdadeira amizade.

À Capes pelo apoio financeiro.

À todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento do trabalho, meus sinceros Agradecimentos!!!

LISTA DE ABREVIATURA

- AAS** – Espectrometria de Absorção Atômica (Atomic Absorption Spectrometry)
- ABNT** – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- BCR** – Bureau Communautaire de Référence
- CBNM** – Central Bureau for Nuclear Measurements
- CENA** – Centro de Energia Nuclear na Agricultura
- CETEM** – Centro de Tecnologia Mineral
- CETESB** – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
- COMAR** – Banco Internacional de Dados de Materiais de Referência Certificados (International Data Bank of Certified Reference Materials)
- CONAMA** – Conselho Nacional do Meio Ambiente
- EMBRAPA** – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- FAAS** – Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (Flame Atomic Absorption Spectrometry)
- GF AAS** – Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry)
- IAEA** – Agência Internacional de Energia Atômica (International Atomic Energy Agency)
- ICP OES** – Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)
- ICP-MS** – Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)
- INAA** – Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (Instrumental Neutron Activation Analysis)
- INCQS** – Instituto Nacional de Controle de Qualidade na Saúde
- INMETRO** – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
- INPM** – Instituto Nacional de Pesos e Medidas
- IPT** – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo
- IRMM** – Institute for Reference Materials and Measurements
- ISO** – International Organization for Standardization
- k** – Fator de Abrangência
- LoD** – Limite de Detecção (Limit of Detection)

LoQ – Limite de Quantificação (Limit of Quantification)

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MR – Material de Referência

MRC – Material de Referência Certificado

NBS – National Bureau of Standards

NIST – National Institute of Standards and Technology

RSD – Desvio Padrão Relativo (Relative Standard Deviation)

U – Incerteza Expandida

u_{bb} – Incerteza Padrão da Homogeneidade

u_{char} – Incerteza Padrão da Caracterização

u_{lts} – Incerteza Padrão da Estabilidade a Longo Prazo

U_{MR} – Incerteza Expandida do Material de Referência

U_{MRC} – Incerteza Expandida do Material de Referência Certificado

USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (United States Environmental Protection Agency)

u_{sts} – Incerteza Padrão da Estabilidade a Curto Prazo

ν – Grau de Liberdade

VIM – Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia

σ_p – Desvio Padrão Alvo

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 3.2.3-1 - Fluxograma das etapas da caracterização do MRC e suas respectivas incertezas associadas[24].</i>	32
<i>Figura 3.3-1 - Representação gráfica de número de material de referência e produtores por países[5].</i>	34
<i>Figura 3.4-1- Gráfico Evolução anual da balança comercial brasileira e do agronegócio - 1989 a 2013 - (em US\$ bilhões)[56].</i>	41
<i>Figura 3.5-1 - Distribuição das partículas por tamanhos[58].</i>	42
<i>Figura 4.1.1-1 - Triângulo de classificação textural de solos[58].</i>	52
<i>Figura 4.1.2-1 - Secagem do solo a temperatura ambiente na casa de vegetação.</i>	53
<i>Figura 4.1.3-1 - Ajuste do tamanho de partícula utilizando o moinho de almofariz e pistilo (A) e a peneiradora vibratória (B).</i>	53
<i>Figura 4.1.4-1 - Homogeneização do material utilizando a betoneira (A) e os baldes plásticos com o material após a moagem (B).</i>	54
<i>Figura 4.1.5-1 - Envase do material de solo em frascos âmbar (A); 50 frascos separados para distribuição aos laboratórios participantes do ensaio colaborativo; Frascos, contendo 100 gramas do material de solo arenoso, rotulados e enumerados (C e D).</i>	55
<i>Figura 4.3.2-1 - Processos que levam à produção de átomos, moléculas e íons em sistemas[75].</i>	58
<i>Figura 4.6.1-1 - Procedimento para realizar o estudo da estabilidade a curto prazo no material de solo candidato a MR.</i>	62
<i>Figura 4.6.2-1 - Procedimento para realizar o estudo da estabilidade a longo prazo no material de solo candidato a MR.</i>	63
<i>Figura 5.2-1 - Curva da distribuição granulométrica do material de solo candidato a material de referência.</i>	70
<i>Figura 5.6.1-1 – Estabilidade a curto prazo para arsênio.</i>	77
<i>Figura 5.6.1-2 - Estabilidade a curto prazo para cálcio.</i>	77
<i>Figura 5.6.1-3 - Estabilidade a curto prazo para cádmio.</i>	78
<i>Figura 5.6.1-4 - Estabilidade a curto prazo para cromo.</i>	78
<i>Figura 5.6.1-5 - Estabilidade a curto prazo para cobre.</i>	79
<i>Figura 5.6.1-6 - Estabilidade a curto prazo para ferro.</i>	79

<i>Figura 5.6.1-7 - Estabilidade a curto prazo para potássio.</i>	80
<i>Figura 5.6.1-8 - Estabilidade a curto prazo para magnésio.</i>	80
<i>Figura 5.6.1-9 - Estabilidade a curto prazo para manganês.</i>	81
<i>Figura 5.6.1-10 - Estabilidade a curto prazo para sódio.</i>	81
<i>Figura 5.6.1-11 - Estabilidade a curto prazo para fósforo.</i>	82
<i>Figura 5.6.1-12 - Estabilidade a curto prazo para chumbo.</i>	82
<i>Figura 5.6.2-1 - Estabilidade a longo prazo para arsênio.</i>	85
<i>Figura 5.6.2-2 - Estabilidade a longo prazo para cálcio.</i>	86
<i>Figura 5.6.2-3 - Estabilidade a longo prazo para cádmio.</i>	86
<i>Figura 5.6.2-4 - Estabilidade a longo prazo para cromo.</i>	87
<i>Figura 5.6.2-5 - Estabilidade a longo prazo para cobre.</i>	87
<i>Figura 5.6.2-6 - Estabilidade a longo prazo para ferro.</i>	88
<i>Figura 5.6.2-7 - Estabilidade a longo prazo para potássio.</i>	88
<i>Figura 5.6.2-8 - Estabilidade a longo prazo para magnésio.</i>	89
<i>Figura 5.6.2-9 - Estabilidade a longo prazo para manganês.</i>	89
<i>Figura 5.6.2-10 - Estabilidade a longo prazo para sódio.</i>	90
<i>Figura 5.6.2-11 - Estabilidade a longo prazo para fósforo.</i>	90
<i>Figura 5.6.2-12 - Estabilidade a longo prazo para chumbo.</i>	91
<i>Figura 5.7-1 - Índice z dos valores de concentração dos elementos reportados no ensaio colaborativo para o material de solo candidato a material de referência.</i>	99
<i>Figura 5.9-1 - Contribuição das incertezas associadas da caracterização, homogeneidade e estabilidade a longo prazo à incerteza expandida final do material de referência de solo.</i>	105

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 3.5-1 - Função de macro e micronutrientes presentes na fisiologia das plantas e as causas de suas possíveis deficiências[58,59].</i>	43
<i>Tabela 3.5-2 - Fontes naturais e antropogênicas de alguns contaminantes inorgânicos[59].</i>	44
<i>Tabela 3.5.1-1 - Materiais de Referência Certificado de solo cadastrados no COMAR e diferentes preparos de amostra.</i>	45
<i>Tabela 3.6-1 - Valores orientadores para qualidade do solo (mg kg⁻¹ de peso seco)[70].</i>	48
<i>Tabela 3.6-2 - Comparação dos valores orientadores para solos do Estado de São Paulo com os valores Internacionais[71].</i>	49
<i>Tabela 4.3.2-1 - Parâmetros instrumentais empregados na análise por ICP OES.</i>	59
<i>Tabela 4.7-1 - Laboratórios participantes do ensaio colaborativo.</i>	65
<i>Tabela 5.1-1 - Limites de detecção, quantificação, faixa linear, comprimento de onda e orientação da tocha na determinação dos elementos As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb e Zn, no solo candidato a MR por ICP OES.</i>	68
<i>Tabela 5.1-2 - Média das concentrações, obtidas por ICP OES, para o material de referência certificado de San Joaquin Soil (NIST 2709A) (n=3).</i>	69
<i>Tabela 5.3-1 - Umidade residual ao candidato MR de solo determinado em estufa a 105°C por 24 h.</i>	70
<i>Tabela 5.4-1 - Frações de massa de As, Cd, Cr, Pb, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn obtidas nas porções amostradas em digestão em micro-ondas com cavidade (n=3).</i>	71
<i>Tabela 5.4-2 – Dados da ANOVA fator único para a estimativa da massa mínima da amostra candidato a material de referência.</i>	72
<i>Tabela 5.5-1 – Dados da ANOVA fator único para o estudo de homogeneidade entre os frascos da amostra de solo candidata a MR.</i>	75
<i>Tabela 5.6.1-1- Dados da ANOVA fator único dos frascos armazenados a 37°C e UR de 100% por um mês, para o estudo de estabilidade a curto prazo da amostra de solo candidata a MR.</i>	83
<i>Tabela 5.6.2-1 - Dados da ANOVA fator único para o estudo de estabilidade a longo prazo da amostra de solo candidata a MR.</i>	91
<i>Tabela 5.6.2-2 - Teste t para os resultados obtidos por ICP OES no estudo de estabilidade a longo prazo.</i>	94
<i>Tabela 5.7-1 - Resultados obtidos pelos participantes do ensaio colaborativo para caracterização do material candidato a material de referência de solo para valores extraíveis dos elementos*.</i>	96

Tabela 5.7-2 - Resultados obtidos pelos participantes do ensaio colaborativo para caracterização do material candidato a material de referência de solo para valores totais dos elementos através da análise por ativação neutrônica instrumental (INAA). _____ 97*

Tabela 5.8-1 - Dados da ANOVA fator único para o ensaio colaborativo do MR de solo. _ 102

Tabela 5.9-1 - Estimativas das incertezas padrão da caracterização (u_{char}), homogeneidade (u_{bb}), estabilidade a longo prazo (u_{lts}) e a incerteza expandida (U_{MR}) para cada elemento no material candidato a material de referência de solo. _____ 104

Tabela 5.9-2 - Valores de referência para os teores extraíveis atribuídos aos elementos determinados no MR de solo ($g\ kg^{-1}$ ou $mg\ kg^{-1}$). _____ 106

Tabela 5.9-3 - Valores informativos para os teores totais atribuídos aos elementos determinados no MR de solo ($g\ kg^{-1}$ ou $mg\ kg^{-1}$), por INAA. _____ 106

RESUMO

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA DE SOLO PARA NUTRIENTES E CONTAMINANTES INORGÂNICOS. Os materiais de referência certificados desempenham papel fundamental no estabelecimento da rastreabilidade em química analítica, assegurando confiabilidade e exatidão dos resultados de medição e são fundamentais para a validação dos métodos analíticos. A demanda por novos materiais de referência cresce a cada dia, em todas as áreas do conhecimento, entre as quais destaca-se a agricultura. Base para a produção dos produtos agrícolas, a demanda por análises de solo é grande e a existência de um material de referência de solo tipicamente brasileiro é importante para garantir a qualidade dos resultados. Nesse contexto, o presente trabalho descreve o preparo e a caracterização de um material de referência nacional de solo para os contaminantes Cr, Pb, Cd e As e os macro e micronutrientes Ca, P, Mg, K, Cu, Fe, Mn, Zn e Na. O material foi produzido seguindo as etapas, estabelecidas pelas normas ISO GUIAS 30 a 35, internacionalmente aceitas no preparo e envase do material, na avaliação da homogeneidade, no teste de estabilidade a curto e a longo períodos e na certificação do material. O solo utilizado, latossolo vermelho amarelo foi artificialmente contaminado com Cr, Pb, Cd e As, adicionados na forma de soluções preparadas a partir dos seguintes sais: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. Após 12 meses da adição dos contaminantes, 65 kg de solo foi seco a temperatura ambiente, moído (granulometria $< 390 \mu\text{m}$), homogeneizado, envasado e irradiado com radiação gama (20 - 25 kGy), visando o aumento do tempo de prateleira. O preparo da amostra visando obtenção dos teores extraíveis dos analitos empregou ácido nítrico 14 mol L^{-1} com aquecimento assistido por radiação micro-ondas e foi baseada em metodologia recomendada pela legislação brasileira (CONAMA N° 420), que por sua vez segue protocolo estabelecido pelo órgão ambiental

americano (USEPA 3051). A avaliação da estimativa da massa mínima, da homogeneidade e da estabilidade do material foi realizada utilizando-se como técnica de determinação a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Os resultados foram submetidos à análise de variância de fator único (ANOVA). A homogeneidade e a estabilidade do material apresentaram médias dentro do intervalo de confiança de 95% para As, Cd, Pb, Cr, Ca, Cu, Fe, Na, K, Mg, Mn e P do material candidato a material de referência de solo. A caracterização química do material foi realizada por meio do ensaio colaborativo, com a participação de laboratórios nacionais e as incertezas associadas a cada passo da preparação do material foram calculadas para se obter a incerteza expandida para cada analito em estudo e a elaboração final da carta de controle com os resultados do material de referência.

ABSTRACT

PREPARE AND CHARACTERIZATION OF A SOIL REFERENCE MATERIAL FOR INORGANIC NUTRIENTS AND CONTAMINANTS. The certified reference materials make an important role in the establishment of traceability in analytical chemistry, ensuring reliability and accuracy to the measurements and are fundamental for the validation of analytical methods. The demand for new certified reference materials increases in all areas of knowledge, with emphases to the agriculture. Basis for the production of farming products, the demand for soil analysis is great and the existence of a reference material of a typical Brazilian soil is important to ensure the quality of results. In this context, the present work describe the prepare and the characterization of a national reference material for Cr, Pb, Cd, and As soil contaminants and Ca, P, Mg, K, Cu, Fe, Mn, Zn, and Na macro and micronutrients. The material was produced following the internationally accepted ISO Guides 30-35 norms considering the preparation and packaging, homogeneity, short and long term stability, and material characterization and certification. A Typic Paleudult soil was artificially contaminated with As, Cd, Cr, and Pb, added as salt solutions from $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, and $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ salts. After 12 month of contamination, 65 kg of soil was dried at room temperature, ground (particles size $< 390\mu\text{m}$), homogenized, packaged and irradiated with gamma ray (20 - 25 kGy) aiming to increase the shelf-life. The analyte soil extractions were based on methodology recommended by Brazilian legislation (CONAMA N° 420), with in turn follows the protocol established by American environmental agency (USEPA 3051). It was performed by assisted microwave oven with the use of $14 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$. The evaluation of the estimate minimum amount, homogeneity and stability of the material were carried out, using inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP OES) determination technique. The results were submitted to

analysis of variance of single factor (ANOVA). The homogeneity and stability of the material presented means within a confidence interval of 95% for As, Cd, Pb, Cr, Ca, Cu, Fe, Na, K, Mg, Mn, and P. The chemical characterization of the material was performed through a collaborative test and the uncertainties related to each step of the material prepare were calculated to obtain the expanded uncertainty for each one of the analytes and to the final drafting of the control chart with the results of the reference material.

SUMÁRIO

<u>1</u>	<u>INTRODUÇÃO</u>	<u>20</u>
<u>2</u>	<u>OBJETIVOS</u>	<u>24</u>
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
<u>3</u>	<u>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u>	<u>26</u>
3.1	MATERIAL DE REFERÊNCIA E MATERIAL DE REFERÊNCIA CERTIFICADO	26
3.2	PRODUÇÃO DE UM MATERIAL DE REFERÊNCIA CERTIFICADO	28
3.2.1	HOMOGENEIDADE	29
3.2.2	ESTABILIDADE	30
3.2.3	CARACTERIZAÇÃO E A INCERTEZA DO MRC	31
3.3	HISTÓRICO DOS MATERIAIS DE REFERÊNCIA	32
3.4	PRODUÇÃO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA NO BRASIL	36
3.5	SOLO	41
3.5.1	MRC DE SOLO	44
3.6	PREPARO DE AMOSTRA	46
<u>4</u>	<u>PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</u>	<u>51</u>
4.1	PREPARO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA	51
4.1.1	OBTENÇÃO DO LOTE DE SOLO	51
4.1.2	PRÉ-TRATAMENTO	52
4.1.3	MOAGEM	53
4.1.4	HOMOGENEIZAÇÃO	54
4.1.5	ENVASE	54
4.1.6	DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULA	55
4.2	DETERMINAÇÃO DA UMIDADE RESIDUAL	56
4.3	DETERMINAÇÃO DOS ELEMENTOS POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA POR PLASMA ACOPLADO INDUTIVAMENTE	56
4.3.1	PREPARO DA AMOSTRA	56

4.3.2	QUANTIFICAÇÃO DOS ELEMENTOS	57
4.3.3	REAGENTES E SOLUÇÕES	59
4.3.4	DESCONTAMINAÇÃO DAS VIDRARIAS	60
4.4	ESTIMATIVA DA MASSA MÍNIMA DA AMOSTRA CANDIDATA A MATERIAL DE REFERÊNCIA	60
4.5	ESTIMATIVA DA HOMOGENEIDADE DA AMOSTRA CANDIDATA A MATERIAL DE REFERÊNCIA	61
4.6	ESTIMATIVA DA ESTABILIDADE DA AMOSTRA CANDIDATA A MATERIAL DE REFERÊNCIA	61
4.6.1	ESTABILIDADE A CURTO PRAZO	62
4.6.2	ESTABILIDADE A LONGO PRAZO	63
4.7	ENSAIO COLABORATIVO	63
<u>5</u>	<u>RESULTADOS E DISCUSSÕES</u>	<u>67</u>
5.1	LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO	67
5.2	DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULA	69
5.3	DETERMINAÇÃO DA UMIDADE RESIDUAL	70
5.4	ESTUDO DA MASSA MÍNIMA DA AMOSTRA CANDIDATO A MATERIAL DE REFERÊNCIA	71
5.5	ESTIMATIVA DA HOMOGENEIDADE DA AMOSTRA DE SOLO CANDIDATA A MATERIAL DE REFERÊNCIA	73
5.6	ESTIMATIVA DA ESTABILIDADE DA AMOSTRA DE SOLO CANDIDATO A MATERIAL DE REFERÊNCIA	76
5.6.1	ESTABILIDADE A CURTO PRAZO	76
5.6.2	ESTABILIDADE A LONGO PRAZO	85
5.7	ENSAIO COLABORATIVO	94
5.8	DETERMINAÇÃO DA INCERTEZA	99
5.9	ATRIBUIÇÃO DOS VALORES DE PROPRIEDADES E INCERTEZAS OBTIDAS	104
<u>6</u>	<u>CONCLUSÕES</u>	<u>108</u>
<u>7</u>	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	<u>110</u>
	<u>APÊNDICE A – CERTIFICADO DE ANÁLISES DO MATERIAL DE REFERÊNCIA DE SOLO</u>	<u>117</u>

Capítulo 1

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Considerando os países da União Europeia enquanto mercado único, o Brasil ocupou, em 2010, a terceira posição no ranking mundial dos mercados exportadores de produtos agrícolas. Foram vendidos quase 300 diferentes produtos para mais de 200 países nesse período[1]. Para que o Brasil possa continuar crescendo com suas exportações é de extrema importância atender as exigências do comércio de exportação, garantindo a qualidade dos produtos agropecuários. Segundo o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), o bom desempenho do agronegócio brasileiro pode ser atribuído em grande parte ao desenvolvimento científico e tecnológico e à modernização da atividade rural, obtidos por meio de pesquisas, expansão da indústria e mecanização[2].

A qualidade dos produtos agropecuários, por exemplo, é demonstrada pelos resultados analíticos, conseqüentemente esses resultados precisam ser obtidos com qualidade, isto é, confiáveis ao uso pretendido, garantindo, assim, a rastreabilidade dos resultados.

Nos últimos anos, o conceito de rastreabilidade tem o interesse em introduzir sistemas da qualidade em laboratórios de ensaio, além do aumento da demanda por medições confiáveis devido à expansão do comércio internacional. A aceitação mundial de resultados requer confiabilidade, rastreabilidade e comparabilidade de medidas para a redução de custos, desenvolvimento de processos eficientes e estabelecimento de condições justas de mercado.

O Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia (VIM, 2012) define rastreabilidade como sendo a propriedade de um resultado de medição em que é possível relacionar o resultado a uma referência por intermédio de uma cadeia contínua e documentada de calibrações, cada uma contribuindo com a incerteza de medição[3]. Dessa forma, a operação para

medir o valor de uma quantidade pode ser definida simplesmente como a realização de uma comparação de um valor desconhecido com um valor conhecido da mesma grandeza.

Logo, para que essa confiabilidade seja alcançada, o laboratório deve ter procedimentos de qualidade e certificação. Tais medidas incluem o uso de métodos de análise validados, o uso de procedimentos internos de controle de qualidade com o emprego de material de referência (MR) e material de referência certificado (MRC), além de procedimentos externos de controle de qualidade, tais como a participação em ensaios de proficiência[4].

Segundo o VIM, material de referência é um “material suficientemente homogêneo e estável em relação as propriedades específicas, preparado para se adequar a uma utilização pretendida em uma medição ou em um exame de propriedades qualitativas”. Já o material de referência certificado é “um material acompanhado de uma documentação emitida por uma entidade reconhecida, a qual fornece um ou mais valores de propriedades especificadas com as incertezas e as rastreabilidades associadas, utilizando procedimentos válidos”[3].

Existem sistemas de busca que podem ajudar a encontrar materiais de referência certificados. O COMAR (Banco Internacional de Dados de Materiais de Referência Certificados), por exemplo, é uma rede de organizações que dissemina informações sobre materiais de referência certificados disponíveis em vários países e produtores. Existem cerca de 10.300 MRCs disponíveis no mercado em diversas matrizes (clínicas, ambientais, matéria-prima) e aproximadamente 118 destes materiais são voltados à agricultura (solos e plantas), sendo que 50 são MRCs de solo[5]. Apesar da importância das medições químicas no setor de agricultura e alimentos, o Brasil ainda não produz MRCs de matrizes de solo.

No entanto, apesar de sua importância na garantia da qualidade dos resultados analíticos, a produção de materiais de referência certificado está se

inicializando no Brasil. De maneira geral, a complexidade do preparo e caracterização dos materiais faz com que o preço final seja elevado, o que pode inviabilizar economicamente seu uso. Consequentemente, a aquisição destes materiais depende da importação de produtores internacionais como: National Institute of Standards and Technology (NIST; Gaithersburg, MD, USA) e o Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM; Geel, Belgium), que os comercializam a custos elevados. Além disso, existem grandes dificuldades e restrições legais à importação de tais materiais.

Finalmente, mas não menos importante, nem sempre é possível dispor de um material de referência de matriz semelhante à das amostras em estudo ou com níveis de concentração da mesma ordem de grandeza, principalmente se considerarmos os produtos agropecuários produzidos em clima tropical que possuem características distintas dos produzidos em áreas temperadas, normalmente fornecedoras dos materiais de referência.

Capítulo 2

Objetivos

2 OBJETIVOS

Preparar um material de referência de solo para futura distribuição aos laboratórios do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e outros laboratórios nacionais.

2.1 Objetivos específicos

Produzir material de referência de solo arenoso contendo teores conhecidos dos seguintes elementos químicos: os contaminantes Pb, Cd, As e Cr e os macro e micronutrientes Ca, Mg, K, P, Mn, Fe, Cu, Zn e Na, baseado em requisitos estabelecidos internacionalmente por ISO GUIAS 30 a 35.

Capítulo 3

Revisão Bibliográfica

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Material de referência e material de referência certificado

Atualmente, resultados analíticos gerados em laboratórios químicos são essenciais para tomada de decisão em diferentes áreas, tais como na indústria, na saúde e no meio ambiente, entre outros. Esses resultados formam a base para tomada de decisão, tendo um caráter decisivo em aceitar ou não uma determinada matéria prima, diferenciar fornecedores, modificar processos produtivos e atuar sobre a saúde das pessoas e de animais. Por esse motivo, os resultados das análises devem ser confiáveis, sempre em função dos objetivos requeridos[6,7]. Resultados não confiáveis trazem um elevado risco de decisões incorretas e pode levar a custos mais elevados, riscos à saúde, e práticas ilegais.

Com a globalização do comércio e da indústria, não é suficiente estar convencido da confiabilidade dos próprios resultados, é necessário tornar a confiabilidade evidente, para que os resultados sejam aceitos sem restrições. Isto é verdadeiro para todo tipo de medição, especialmente na Química, devido à crescente importância que esta área desempenha na economia e na sociedade[8].

Portanto, uma maneira de se obter resultados confiáveis é a comparação do resultado obtido para uma amostra com um valor de referência de um material conhecido, os materiais de referência e os materiais de referência certificados. Esses materiais são ferramentas importantes e auxiliam para obtenção de resultados de medições precisos e verificação de resultados de medições analíticas[9].

Segundo a ABNT ISO GUIA 30[10], material de referência certificado é definido como “um material de referência, acompanhado por um certificado, com um ou mais valores de propriedade, certificado por um procedimento que estabelece sua rastreabilidade à obtenção exata da unidade na qual os valores da propriedade são expressos, com cada valor certificado acompanhado por uma

incerteza para um nível de confiança estabelecido”. E define também material de referência como “material ou substância que tem um ou mais valores de propriedades que são suficientemente homogêneos e bem estabelecidos para ser usado na calibração de um aparelho, na avaliação de um método de medição ou atribuição de valores a materiais”.

Os MRs e MRCs são designados como os padrões a serem utilizados em Química Analítica, sendo normalmente empregados na verificação de métodos, avaliação da eficiência dos resultados obtidos, validação de métodos, estimativa das incertezas de uma medição, calibração, trabalhos de pesquisa e desenvolvimento, atividades de controle interno da qualidade e para fins de garantia externa da qualidade. Se vários laboratórios conseguem atingir o mesmo resultado analítico para um mesmo material de referência certificado, isto mostra que as suas medições são comparáveis[10–14].

A diferença entre ambos é que, enquanto um material de referência específico pode ser adequado para controle de qualidade, mas não para validação de metodologia, a definição de MRC leva em conta o importante termo rastreabilidade, utilizado para relacionar o resultado de medição a uma referência, permitindo a esse tipo de materiais usos variados e simultâneos.

A ABNT ISO GUIA 30 define rastreabilidade como “propriedade do resultado de uma medição ou do valor de um padrão, com uma incerteza indicada, estar relacionado a referências estabelecidas, usualmente padrões nacionais ou internacionais, através de uma cadeia de comparações ininterruptas”[10].

Assim, a rastreabilidade é requisito importante para a garantia da qualidade dos dados analíticos nos mercados nacionais e internacionais. A rastreabilidade permite também que a obtenção de uma medida, independentemente dos laboratórios participantes, tenham uma escala de medição muito similar, assegurando portanto um controle maior do resultado[15].

Desta forma, a utilização dos materiais de referência e materiais de referência certificados tem influência direta na qualidade dos resultados gerados, uma vez que possibilitam a transferência dos valores de grandeza entre diferentes laboratórios[11]. Assim, a confiança dos laboratórios pode ser alcançada, garantindo a transparência, confiabilidade e aceitação[12].

3.2 Produção de um material de referência certificado

Com a intenção de estabelecer uma diretriz para a produção e o uso de MRC e MR, seis guias foram publicadas pela International Organization for Standardization (ISO) e traduzidas para o português pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), que são reconhecidas internacionalmente [10,11,16–19]:

- ABNT ISO GUIA 30 - Termos e definições relacionados com materiais de referência - apresenta os termos e os significados associados em relação aos MRs.
- ABNT ISO GUIA 31 - Materiais de referência - Conteúdo de certificados e rótulos - estabelece às informações que devem constar em um certificado de MR.
- ABNT ISO GUIA 32 - Calibração em química analítica e uso de materiais de referência certificados - recomendações gerais para aqueles que enfrentam problemas relacionados à calibração e a seleção e uso de MR internos e dos MRCs.
- ABNT ISO GUIA 33 - Utilização de materiais de referência certificados - discute a utilização de MRC e suas aplicações corretas.
- ABNT ISO GUIA 34 - Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência – estabelece os requisitos para o sistema da qualidade segundo os quais os MRs devem ser produzidos.
- ISO GUIDE 35 - Reference materials - General and statistical principles for certification - fornece princípios estatísticos para auxiliar na compreensão e

desenvolvimento de métodos válidos para atribuir valores às propriedades de um material de referência, incluindo a avaliação de suas incertezas associadas, e estabelecer sua rastreabilidade metrológica.

A ABNT ISO GUIA 34, estabelece diretrizes para a produção do MRC que inclui: análise qualitativa para a verificação do tipo do material; usinagem, moagem, homogeneização, peneiramento e quarteamento; determinação da distribuição dos tamanhos de partículas; limpeza de recipiente de amostra; secagem e esterilização; embalagem de amostras representativas do lote; testes de homogeneidade e estabilidade; e por fim, a caracterização das propriedades do MR[11].

As principais etapas da caracterização do material consistem nos estudos da homogeneidade e estabilidade, e a obtenção do valor de propriedades do material, ou seja, a caracterização[9,20].

3.2.1 Homogeneidade

Dentre as etapas de preparo de um material de referência, a homogeneização é uma das mais críticas e pode-se dizer que a homogeneidade é pré-requisito para um material de referência. De acordo com a ABNT ISO GUIA 30[10], a homogeneidade de um material de referência é a “condição de uniformidade de estrutura ou composição com respeito a uma ou mais propriedades especificadas. Um material de referência é dito homogêneo com respeito a uma determinada propriedade, se o valor da propriedade, determinado por ensaios em amostras de tamanho determinado, se encontra dentro dos limites de incerteza especificados. As amostras podem ser tomadas de embalagens diferentes (frascos, pacotes, etc.) ou de uma única embalagem”.

Para o teste, a ISO GUIDE 35[19] estabelece que o número de frascos selecionados aleatoriamente deve incluir entre 10 e 30 unidades do lote preparado. O planejamento para verificar a homogeneidade de um lote de material preparado para fins de certificação deve indicar as variabilidades da amostra dentro do recipiente, assim como entre os recipientes que contêm os

materiais que compõem o lote, devidamente envasados. As análises para o teste de homogeneidade devem ser realizadas em condições de repetitividade, ou seja, mesmo laboratório, mesmo analista e todas as amostras testadas no mesmo dia. Além disso, na variabilidade entre os frascos, deve ser incluída a incerteza relativa a tal condição[21]. A avaliação e a estimativa da incerteza do estudo de homogeneidade são baseadas na ISO GUIDE 35[19], através da análise de variância ANOVA de fator único[20,22].

3.2.2 Estabilidade

A estabilidade dos materiais de referência, também é um requisito essencial. Espera-se que os materiais de referência tenham uma longa vida de prateleira, resistindo à degradação devido a fatores como luz, oxidação, ação de microrganismos, etc. A ABNT ISO GUIA 30[10], define estabilidade como a “capacidade do material de referência de manter o valor de uma determinada propriedade dentro de limites especificados por um período de tempo preestabelecido, quando estocado nas condições especificadas”. Dois testes distintos de estabilidade são realizados, estabilidade a curto e a longo prazos.

O estudo de estabilidade a curto prazo simula as condições de transporte, garantindo que o material não sofrerá degradação por alteração de temperatura e umidade durante o transporte, por exemplo. A variação de temperatura é um fator chave na degradação do material e, portanto, frascos com o material são mantidos a diferentes temperaturas e analisadas em função do tempo para verificar possíveis alterações de suas propriedades[23]. Por outro lado, a estabilidade a longo prazo (simula o tempo de prateleira) verifica se o material de referência pode ser armazenado em condições definidas, tais como temperatura ambiente, verificando assim seu comportamento na prateleira do produtor.

Os estudos de estabilidade são também utilizados para estimar a contribuição da incerteza de medição associada à estabilidade do material, bem como definir as condições de armazenamento e transporte.

3.2.3 Caracterização e a incerteza do MRC

A caracterização do MRC tem como objetivo fornecer o valor de propriedade usando quatro abordagens de acordo com ABNT ISO GUIA 34[11]: medição por um único método, primário, em um laboratório; medição por dois ou mais métodos de referência independentes em um mesmo laboratório; medição por uma rede de laboratórios com um ou mais métodos de exatidão demonstrável; medição com método específico em um programa interlaboratorial realizado entre diferentes laboratórios.

Segundo o VIM[3], o termo incerteza de medição é “parâmetro não negativo que caracteriza a dispersão dos valores atribuídos a um mensurado, com base nas informações utilizadas”. Obviamente, a confiança na precisão da medição dos resultados é muito maior quando acompanhada de um valor declarado de incerteza[24].

Segundo o GUIA EURACHEM/CITAC[4], em química analítica, para a maioria dos fins, deve-se usar uma incerteza expandida, U . A incerteza expandida dá um intervalo dentro do qual se crê encontrar-se o valor do mensurando, com um maior grau de confiança. O valor de U é obtido pela multiplicação da incerteza padrão combinada, u , por um fator de abrangência k . A escolha do fator k é baseada no grau de confiança desejado. Para um grau de confiança de aproximadamente 95%, k é 2.

A incerteza final do MRC ou MR leva em considerações as incertezas associadas aos testes de homogeneidade, estabilidade e a caracterização do material. Assim, a incerteza expandida associada ao valor de propriedade de um MRC pode ser expressa pela Equação (3.1) [19]:

$$U_{MRC} = k \sqrt{u_{char}^2 + u_{bb}^2 + u_{sts}^2 + u_{lts}^2} \quad (3.1)$$

Onde k é o fator de abrangência, que neste trabalho usaremos $k=2$, com intervalo de confiança de 95% e através das contribuições referentes a incerteza

padrão da caracterização (u_{char}), da homogeneidade (u_{bb}), da estabilidade a curto prazo (u_{sts}), da estabilidade a longo prazo (u_{Its}).

A Figura 3.2.3-1 exibe um fluxograma das etapas da caracterização e suas respectivas incertezas associadas a cada etapa que deve ser realizado para a produção de um MRC.

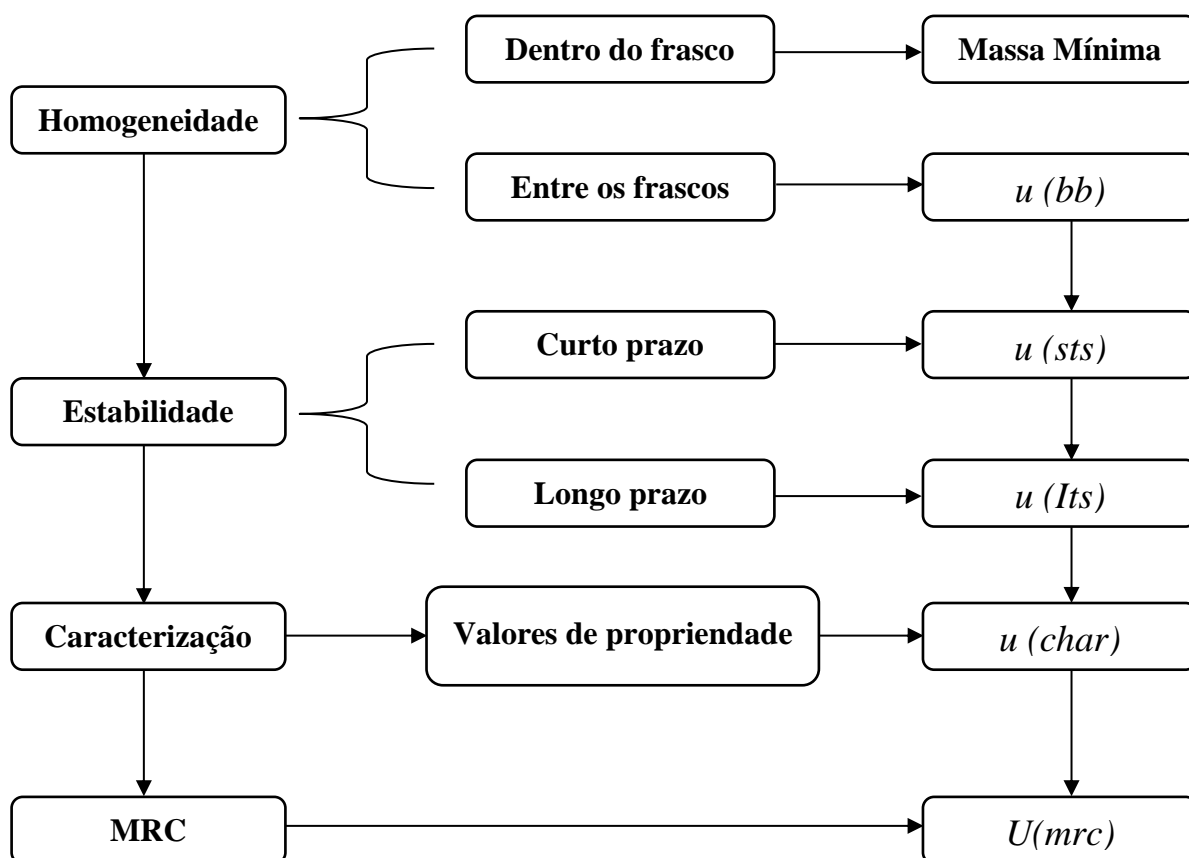


Figura 3.2.3-1 - Fluxograma das etapas da caracterização do MRC e suas respectivas incertezas associadas[24].

3.3 Histórico dos materiais de referência

Os primeiros materiais de referência europeus se concentraram na certificação de elementos em matrizes estáveis. Desde o começo do século 20, foram produzidos materiais de referência para ferro e aço na Alemanha e Reino Unido[15].

Em 1950, houve a criação dos materiais de referência nucleares e isotópicos nos centros nucleares de Atomic Energy Research Establishment (Reino Unido), Commissariat à l'Énergie Atomique (França) e Central Bureau

for Nuclear Measurements (CBNM-Bélgica). Em 1993, o CBNM mudou seu nome para Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM), apresentando medições de alta exatidão e precisão de materiais nucleares[15].

Na década de 70, o Bureau Communautaire de Référence (BCR) foi criado pela Comissão Europeia, iniciou-se a produção dos primeiros materiais de referência não-nucleares europeus, denominados “BCR CRMs”, que foram, até o final dos anos 70, direcionados para a indústria (metais não-ferrosos, minérios, etc.)[15].

Na América, mais precisamente nos Estados Unidos, o primeiro fato ligado à história dos materiais de referência ocorreu em 1883, na cidade de Nova Jersey. O ex-presidente americano John Quincy Adams estava dentro de um trem que sofreu um descarrilamento, com vítimas, durante a viagem. Esse acidente era típico na época e com o objetivo de prevenir a perda de outras vidas, criou-se a “Agência”, depois denominada Agência de Padrões, onde se inicializou a certificação de materiais de referência[25].

Em 1905, a Agência de Padrões foi denominada como National Bureau of Standards (NBS), instituto antecessor do National Institute of Standards and Technology (NIST), onde foram iniciados estudos para tentar resolver o problema com o descarrilamento dos vagões devido a fraturas nas rodas de ferro fundido. Quando o projeto foi terminado em 1906 foram criados quatro materiais de referência certificados de aparas de ferro fundido que foram colocados à venda para serem utilizados como referência. Em 1910 foram produzidos novos lotes das amostras de aparas ferro fundido denominado como “amostra padrão”[25].

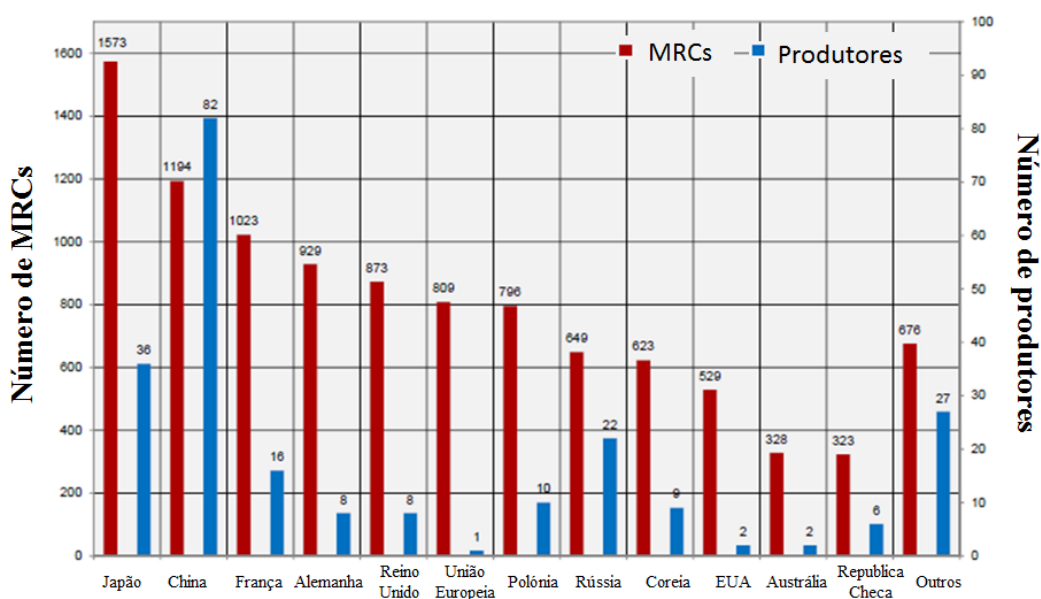
O sucesso dos materiais de referência de ferro fundido contribuiu para expansão do conceito de MR e assim em 1911, o catálogo já continha 25 MRC entre ligas metálicas, minérios de ferro e escoria de cobre. Durante as duas guerras mundiais o desenvolvimento de MR cresceu lentamente e apenas na

década de 50 e 60 que houve novamente um aceleração na produção de MR e em 1969 existiam 582 tipos de MRCs no catálogo da NBS[25,26].

O período de maior produção de MRCs em quantidade e variedades ocorreu nos anos 70, sendo que as principais matrizes foram ambientais. Nos anos de 80 começou a produção de MRCs de alimentos, como por exemplo: farinha de trigo, farinha de arroz, fígado bovino e tecido de ostra. Nos anos 90 houve a certificação de vitaminas em mistura dietética e fórmulas infantis[25].

É interessante o avanço na produção de MRC, que resultaram no estabelecimento das guias ISO GUIAS, que são as diretrizes para a produção de MRC.

Segundo o COMAR, atualmente existem cerca de 10.300 MRC em diversas matrizes, 230 produtores em 25 países cadastrado do banco de dados do COMAR. Na representação gráfica abaixo (Figura 3.3-1) é possível observar que a China é o país que possui a maior quantidade de produtores de MRC, e o Japão é o país que possui uma maior quantidade de materiais de referência certificado[5].



COMAR – SECRETARIA CENTRAL
Janeiro 2014

Figura 3.3-1 - Representação gráfica de número de material de referência e produtores por países[5].

Na literatura, atualmente são apresentados diversos estudos sobre MR e a produção dos mesmos.

Schmidt e colaboradores[27] para atender com qualidade o Plano Nacional de Controle de Resíduos alemão, que exige que um número específico de amostras de origem animal deve ser analisado para esteroides naturais e sintéticos a cada ano, produziram um material de referência de urina bovina contaminada pelos resíduos de 17α - e 17β -nortestosterona, 17α - e 17β -estradiol, 17α -methyltestosterona e 17α -trenbolona. O teste de homogeneidade e estabilidade a curto e longo prazos foram avaliados e o material foi considerado homogêneo e estável para 17α -nortestosterona, 17α -methyltestosterona, 17α -trenbolona e 17α - e 17β -estradiol. A caracterização do material foi realizada por meio do ensaio colaborativo. O Material foi caracterizado para 17α - e 17β -nortestosterona, 17α -methyltestosterona, 17α -trenbolona.

Scharf e colaboradores[22] produziram um material de referência de madeira para elementos traço e pentaclorofenol. Esse trabalho foi realizado para apoiar a melhoria no controle de qualidade na análise de resíduos de madeira. O material de referência de madeira foi certificado em frações em massa de arsênio, cádmio, cromo, cobre, chumbo, mercúrio e pentaclorofenol (PCP). As medições de certificação foram realizadas nos laboratórios selecionados com perícia documentada para análise de resíduos de madeira. Os valores certificados e as suas correspondentes incertezas foram atribuídos em plena conformidade com os requisitos da ISO GUIDE 35. O material certificado está disponível como material de referência europeu ERM[®]-CD100 para As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb e PCB.

Caroli e Bottoni[28] produziram um material de referência de mexilhão da Antártida (*Adamussium colbecki*) para elementos traço. O MRC foi nomeado como IRMM 813 e foi produzido em parceria com o Programa Nacional Italiana para Pesquisa na Antártida (PNRA). O Material foi considerado estável e homogêneo. Os valores de propriedades dos elementos foram determinados

através do ensaio colaborativo, onde 18 laboratórios de doze países participaram do ensaio. O material foi certificado para os elementos As, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni e Zn.

Zischka e colaboradores[29] certificaram paládio, platina e ródio para material de referência de poeira de asfalto. Foram realizadas todas as etapas essenciais para a produção de um MRC, como homogeneidade, estabilidade e caracterização. O material foi identificado como BCR[®]-723, sendo comercializado pelo IRMM.

Caroli e colaboradores[30] realizaram um estudo piloto de produção de um material de referência para elementos-traço em mel. Os elementos considerados foram As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sn, V e Zn. Porém o material apresentou instabilidade em relação à estabilidade a longo prazo.

Caroli e colaboradores[31] publicaram um estudo em andamento para a produção de um novo MRC de músculo bovino para As, Cd, Cu, Hg, e Pb. No trabalho foi realizado o preparo do material, pré-caracterização e estudo da homogeneidade. Concluíram que o material é homogêneo, e que existe um número suficiente de laboratórios capaz de fornecer resultados concludentes para o tipo de matriz sob estudo, podendo então posteriormente ser certificado.

Wang e colaboradores[32] desenvolveram um trabalho visando a produção de três materiais de referência certificados para o teor de água com base em soluções mistas de carbonato de xileno, butanol e propileno. Esses três CRM foram produzidos e certificados pelo método de Karl Fischer coulométrico e por métodos volumétricos.

3.4 Produção do material de referência no Brasil

O início da produção de materiais de referência para análise química no Brasil iniciou-se em 1975 com a criação do Núcleo de Padrões Analíticos, atualmente Agrupamento de Materiais de Referência, pelo Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT). Pode se dizer que o Brasil tem um

atraso na produção de MRC de 100 anos em relação aos Estados Unidos, por exemplo. A exemplo dos primeiros materiais de referência produzidos nos países desenvolvidos, a linha de ação do agrupamento foi direcionada para a indústria, com a certificação de ligas metálicas, minérios e óleos minerais. Desde da sua criação, o IPT já desenvolveu mais de 130 tipos de materiais de referência certificados.

Desde 1978, quando foi criado, o CETEM tem se dedicado ao desenvolvimento de pesquisa tecnológica para o processamento mineral e metalúrgico e à prestação de serviços para a indústria mineral. As primeiras atividades do CETEM relacionadas ao desenvolvimento de material de referência, realizadas há mais de 20 anos, foram os estudos por comparação interlaboratorial em carvão e minério de ouro, com a participação de 25 laboratórios de institutos de pesquisa, universidades e indústrias minerais brasileiras[33].

Em 1983 pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade na Saúde (INCQS) - Fundação Oswaldo Cruz/Ministério da Saúde, desenvolveram materiais de referência para matrizes biológicas, a partir de um programa voltado ao controle de qualidade de produtos sujeitos à vigilância sanitária e controle de qualidade de conjuntos de diagnósticos[34].

Em 1992 o Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) em colaboração com a Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) produziu o material de referência Trace Elements in Soya Flour (IAEA RM-361), certificado para Br, Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Rb e Zn em comparação interlaboratorial, em que participaram 21 laboratórios da América Latina.

Em 1961, foi criado o Instituto Nacional de Pesos e Medidas (INPM), centralizando a política metrológica nacional e em 1973, este foi substituído pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), que produz e comercializa, padrões de bioetanol, pH, condutividade eletrolítica, etanol em água, cachaça e ácido clorídrico[35].

Um pequeno número de instituições produz e comercializa materiais de referência no país. A partir da base de dados do COMAR[5], o Brasil possui 106 materiais de referência certificados cadastrados na base, sendo que 12% foram produzidos pelo CETEM, 31% foram produzidos pelo INMETRO e 57% produzidos pelo IPT.

De uma maneira geral, a produção de materiais de referência certificados no Brasil é recente e está em desenvolvimento. Em 2006 o CETEM produziu um material de referência certificado de bauxita (BXPA-1) e em 2014 quatro MRC de bauxitas (BXBA-3, BXBA-4, BXGO-2 e BXMG-6). Em 2007 produziu 2 MRC para indústria de cobre (CBPA-1 e CBPA-2)[33,36–38]. Cotta e Enzweiler produziram um MR de basalto, destinado a estudos geoquímicos[39].

A contribuição do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT) para materiais de referência certificados está na área siderúrgica (aços, ferros fundidos, metais puros, ligas de cobre, ferro-ligas, refratários e minérios) e na indústria do petróleo. Alguns trabalhos podem ser mencionados como um estudo sobre a homogeneidade de um lote de material silício metálico candidato a material de referência[40] e outro trabalho para a certificação de material de referência de minério de ferro[41].

O INMETRO desenvolveu um material de referência certificado para etanol em água, para calibrar os analisadores de álcool para determinação do teor de álcool (etanol) presente no ar expirado pelos condutores de veículos[42].

Outra iniciativa brasileira no campo do MR é a do laboratório de Radioisótopos do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA/USP, realizando o estudo da homogeneidade do material de café candidato a MR. Os elementos Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, Na, Rb, Sc e Zn foram determinados por meio da análise por ativação com nêutrons (INAA). O teste F demonstrou que o material é homogêneo para Ca, Co, Cs, K e Sc, mas não homogêneo para Br, Fe, Na, Rb e Zn[43].

Outra contribuição na produção de MR é o Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares (IPEN). Moreira e colaboradores produziram um material de referência para mexilhão nacional para 11 elementos[23,44–46]. E Ulrich e colaboradores produziram um MR de peixe para mercúrio e metilmercúrio[47,48].

Carioni e colaboradores avaliaram vários parâmetros para a preparação de um material de atum candidato a material de referência para arsênio total. As determinações foram feitas por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite com amostragem em suspensão (SLS-GF AAS) e espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos e amostragem de suspensão (SLS-HG AAS)[49].

Brandão e colaboradores produziram um MR em matriz de queijo. O MR produzido foi considerado homogêneo e estável à temperatura ≤ -70 °C durante todo o período estudado (dez meses). O material apresentou estabilidade a 4, 25, 30 e 35 °C durante quatro dias; contudo, os resultados indicam que a 35 °C ocorre um decréscimo na concentração celular. A -20 °C, o MR apresentou-se estável durante 48 dias. Concluíram que o material apresentou todos os requisitos necessários de um MR de qualidade e poderia ser transportado aos laboratórios participantes de um ensaio de proficiência a temperaturas de até 35 °C por até quatro dias, uma vez que os resultados indicaram a manutenção da concentração celular neste período[50].

Cardoso e colaboradores estudaram a estabilidade referente à produção de um material de referência certificado para controle de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros. Neste estudo, foram avaliados níveis residuais de concentração dos agrotóxicos γ -HCH, fenitrotona, clorpirifós e procimidona em polpa de tomate[51].

Lima e colaboradores avaliaram a homogeneidade de um material de farinha de trigo candidato a MR para análise inorgânica. E o material se apresentou homogêneo. A massa da amostra sobre a homogeneidade do material

também foi avaliada por quantificação dos elementos para 100, 300, 500, 700 e 1000 mg de massa de amostra, e os resultados demonstraram que o material é homogêneo para as massas de 100 a 1000 mg[52].

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA, unidade Pecuária Sudeste, produziu recentemente dois materiais de referência. Um MR de mistura mineral para gado de leite para os analitos Ca, K, Na, P, Cu, Fe, Mn, Mg, Zn e os contaminantes As, Cd e Pb. E outro MR de forrageira para os analitos Ca, P, Mg, K, Cu, Fe, Mn, Zn e Na e os contaminantes As, Cd, Cr e Pb. Ambos os MRs foram produzidos conforme as ISO 30 a 35. Os materiais estão disponíveis para distribuição no site da EMBRAPA (<http://www3.cppse.embrapa.br/materiaisdereferencia/>), bem como o certificado de análise[53,54].

Visto todas as produções de MRs, percebe-se que o setor de produtos agropecuários e alimentos está entre os mais carentes de materiais de referência certificados. No Brasil, essa demanda é atendida somente pela importação de países produtores a custos elevados e que nem sempre atendem as demandas em termos de combinação analito-matriz que devem ser o mais próximo possível. Devido a diversidade de análises realizadas este requisito nem sempre pode ser cumprido em um grau suficiente[55].

Essa deficiência de MR para o setor agropecuário se torna crítica quando percebe-se o panorama do agronegócio brasileiro. Através do gráfico da evolução anual da balança comercial brasileira e do agronegócio do ano de 1989 a 2013 (Figura 3.4-1), pode-se observar que as exportações de produtos agropecuários têm uma tendência crescente com o passar dos anos e tem uma participação significativa na balança comercial brasileira. Devido ao crescimento neste setor, o Brasil somente poderá continuar e expandir suas exportações sendo competitivo e adequando o produto nacional às exigências do mercado internacional, as quais se referem à existência de resultados validados e rastreáveis a sistemas internacionais. E para isso, tem-se a importância da

utilização e desenvolvimento de novos materiais de referência e materiais de referência certificados voltados para este setor[56].

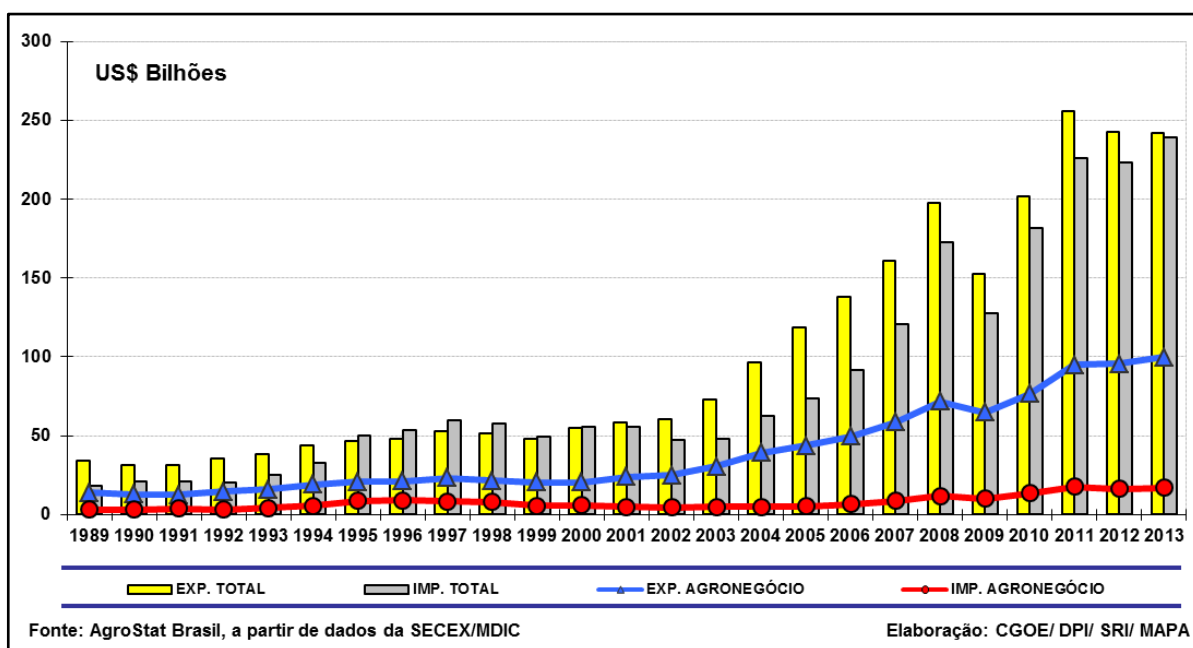


Figura 3.4-1- Gráfico Evolução anual da balança comercial brasileira e do agronegócio - 1989 a 2013 - (em US\$ bilhões)[56].

3.5 Solo

O Solo é uma complexa mistura de matéria inorgânica que pode ou não conter resíduos orgânicos decompostos e outras substâncias que cobrem a crosta terrestre. O solo é o resultado do desgaste das rochas.

As rochas sofrem alterações devidas a ações climáticas como oscilações de temperatura, do vento e da água, ações químicas (oxidação, hidratação, hidrólise, carbonatação) que são provocadas pela água ou microrganismos, especialmente quando contém ácidos carbônicos, agindo ao longo do tempo. Todas as rochas estão sujeitas a estas ações. As alterações isoladas ou simultâneas modificam e fragmentam as rochas existentes, transportam e reúnem estes fragmentos para originar novos sedimentos[57,58].

O solo compõe-se por quatro partes misturadas de: ar; água; matéria orgânica; porção mineral (areia, silte, argila)[58].

As areias, por serem partículas maiores (tamanho entre 0,2 e 0,005 cm), apresentam maiores espaços entre as partículas, por isso retêm pouca água, sendo portanto drenos naturais do solo. As argilas são partículas com tamanho menor que 0,0002 cm, portanto bem menores que as partículas de areia. Os solos com muita argila apresentam maior capacidade de reter água e nutrientes, pois apresentam mais espaços pequenos onde estes podem ficar armazenados. O silte é constituído por partículas de tamanho intermediário entre as partículas de areia e argila, representada na Figura 3.5-1[58].

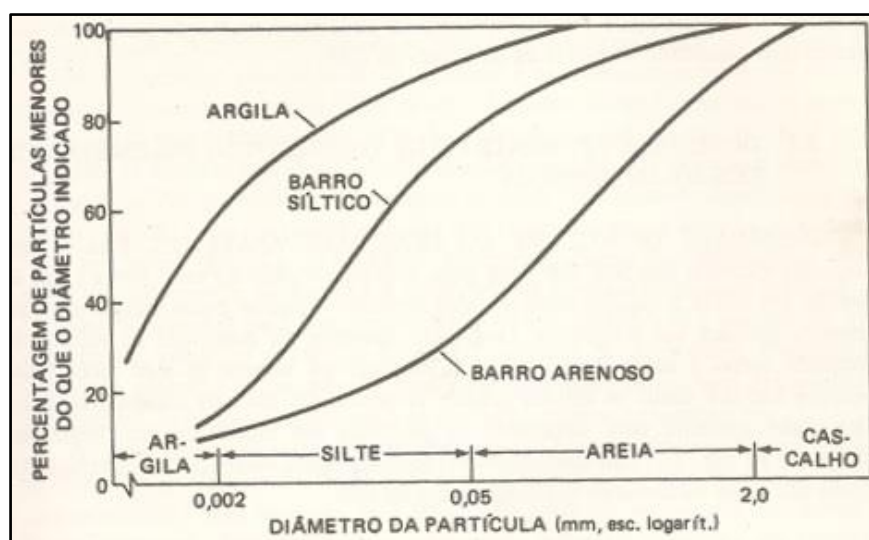


Figura 3.5-1 - Distribuição das partículas por tamanhos[58].

O solo configura-se elemento fundamental para as plantas, pois é onde se encontram os nutrientes essenciais para o seu desenvolvimento, que são liberados para a solução do solo por meio do intemperismo químico. Os elementos são classificados de acordo com a quantidade necessária para as plantas, e podem ser classificados em macro e micronutrientes.

Os macronutrientes são assim chamados por serem absorvidos em grandes quantidades, como o cálcio, potássio, fósforo, magnésio. E os micronutrientes são absorvidos em pequena quantidade pelas plantas, como cobre, ferro, zinco, manganês[58]. A importância dos nutrientes, bem como as causas da deficiência dos mesmos estão brevemente descritos na Tabela 3.5-1.

Tabela 3.5-1 - Função de macro e micronutrientes presentes na fisiologia das plantas e as causas de suas possíveis deficiências[58,59].

Nutrientes	Característica nutricional	Deficiência na planta
Macronutrientes (Ca, K, P, Mg)	Resistência às doenças; Processo enzimático.	Doenças fisiológicas como clorose e necrose; Redução do crescimento de raízes e parte aérea.
Micronutrientes (Cu, Fe, Zn, Mn)	Auxiliam na fotossíntese; ativam o metabolismo.	Doenças fisiológicas como manchas necróticas; e prejudica o crescimento (internódios curtos).

Os contaminantes inorgânicos presentes no solo podem ser oriundos da própria natureza ou por fontes antrópicas. A concentração total natural de contaminantes inorgânicos no solo depende principalmente do tipo de material de origem e é evidenciada quando o solo é formado *in situ*, ou seja, diretamente sobre a rocha matriz. O aumento anormal dos teores dos contaminantes inorgânicos nos solos de agricultura de alta tecnologia resulta da deposição atmosférica, da aplicação de defensivos agrícolas, de resíduos orgânicos e inorgânicos urbanos e industriais, de fertilizantes e corretivos e de irrigação com água contaminada[59,60].

Os fertilizantes minerais contêm frequentemente impurezas, dentre elas os contaminantes inorgânicos. Assim, seu uso indiscriminado tem causado aumento do teor desses elementos no solo, introduzindo-os na cadeia alimentar, conforme verificado em plantas de tomate, de feijão e de pimentão. Os fertilizantes fosfatados, dependendo da origem do solo, geralmente contêm baixos teores de contaminantes inorgânicos provenientes de impurezas[60].

Dentre as fontes antrópicas de contaminação do solo com contaminantes inorgânicos, a irrigação constitui fonte significativa, principalmente quando a água utilizada é proveniente de rios que recebem grande carga poluidora. Outra fonte de contaminação é o lodo de esgoto, resíduo insolúvel do tratamento de

águas residuais com a finalidade de torná-las menos poluídas, permitindo seu retorno ao ambiente sem que sejam agentes poluidoras[60].

Malavolta exemplificou em uma tabela (Tabela 3.5-2), as principais fontes naturais e antrópicas de alguns contaminantes inorgânicos.

Tabela 3.5-2 - Fontes naturais e antropogênicas de alguns contaminantes inorgânicos[59].

Elemento	Natural	Antropogênico
Cd	Minério de Zn e Pb; Rocha Fosfática.	Resíduo de mineração, galvanoplastia, indústria de pilhas.
Cr	Mineral cromita; Solos de serpentina.	Galvanoplastia, ligas metálicas, esgoto industrial, produtos anticorrosivos.
Cu	Sulfetos óxidos; Carbonatos.	Galvanoplastia, ligas metálicas, esgoto industrial e doméstico, resíduos de mineração, defensivos agrícolas.
Pb	Mineral galena.	Indústria de baterias, encanamento, carvão, gasolina.
Hg	Mineral cinabrio.	Resíduo industrial e mineração, defensivos.
Ni	Minerais diversos; solo de serpentina.	Ligas metálicas, indústria de baterias.
Zn	Minerais (sulfetos, óxidos, silicatos).	Ligas metálicas, resíduo industrial, galvanoplastia.

Os contaminantes inorgânicos trazem alguns sintomas de toxidez para as plantas. O cádmio por exemplo, deixam as folhas com margens pardas, causam clorose, pecíolos, e nervuras avermelhadas. O cromo, provoca clorose nas folhas mais novas e raízes mal desenvolvidas. Já o chumbo pode causar murchamento das folhas mais velhas, partes aéreas e raízes pouco desenvolvidas. O teor tóxico máximo considerado ao tecido vegetal é de 14, 9 e 50 mg kg⁻¹ para o As, Cr e Cd, respectivamente[59].

3.5.1 MRC de solo

Dos 10.300 MRCs que estão cadastrados no COMAR, 118 são voltados para Agricultura (solo e plantas) e destes 50 são de solo, sendo que nenhum é

brasileiro. Na Tabela 3.5.1-1 estão alguns MRCs de solo cadastrados no COMAR, forma de extração e os países produtores.

Tabela 3.5.1-1 - Materiais de Referência Certificado de solo cadastrados no COMAR e diferentes preparos de amostra.

Código do MRC	Ano	Formas de extração	País
BCR - 530	1999	Compostos orgânicos	Bélgica
IRMM-443-1 ao 443-7	1995	pH em solo	Bélgica
TILL-1 ao TILL- 4	1995	Teores Extraíveis (EPA 3051 e EPA 3050)	Canadá
BAM-U113	2009	Teores Extraíveis (Água Régia)	Alemanha
LGC 6145	2007	Teores Extraíveis (Água Régia)	Reino Unido
RTH 907, RTH 912 e RTH 938	1998	Teores Extraíveis (Água Régia)	Holanda
BPGM-1	1995	Teores Totais e Extraíveis	Polônia
CGL 301 e USZ 16-94	1994	Teores Totais	Mongólia
NIST 2710a	2002	Teores Totais	Estados Unidos
NIST 2711a	2002	Teores Totais	Estados Unidos

Alguns trabalhos são reportados na literatura para produção de material de referência de solo.

Shakhashiro e colaboradores produziram e certificaram um material de referência de solo (IAEA-447) para procedimentos analíticos de radioquímicas. Este MRC pode ser utilizado para garantir a qualidade dos resultados analíticos, melhorar os resultados de medição, validar métodos para a espectroscopia de raios gama e procedimentos radioquímicos[61].

Llauradó e colaboradores preparam um material de referência de solo para a determinação de radionuclídeos (^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{40}K , ^{212}Pb , ^{214}Pb , ^{208}Tl , ^{214}Bi e ^{228}Ac). O material foi preparado pela mistura de três solos, dois de áreas afetadas pelo acidente de Chernobyl NPP que apresentam radioatividade por

contaminação, e um solo não contaminado do interior da Catalonia. Os testes de homogeneidade e estabilidade foram avaliados. O material preparado foi considerada homogêneo e estável[62].

Kocman e colaboradores prepararam e caracterizaram um material de referência de solo contaminado com mercúrio. O material foi caracterizado para mercúrio total (T-Hg) e metilmercúrio (MeHg) por análise por ativação neutrônica instrumental (INAA). Os valores de referência são $67,1 \pm 11,3$ mg kg⁻¹ para T-Hg e $4,0 \pm 1,3$ ng g⁻¹ para MeHg com 95 % de confiança[63].

3.6 Preparo de amostra

Os métodos analíticos convencionais requerem o uso de soluções homogêneas para a análise de teores totais, exceto os métodos não destrutivos. Assim, a análise elementar de uma amostra de solo é feita após sua solubilização por meio de digestão ácida ou de fusão alcalina. De modo geral, a solubilização ácida é o método de digestão preferido, principalmente quando a quantificação for feita por espectrometria de absorção atômica (AAS), por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) ou por espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS)[60].

Diferentes preparos de amostras têm sido propostos para a decomposição de amostras de solo. Grande parte dos procedimentos utilizados nas decomposições das amostras é para fins de fertilidade ou qualidade do solo. Nesse caso, são os teores que estão disponíveis para as plantas. Mas também existem metodologias voltadas para determinações dos teores totais dos elementos. Nos Estados Unidos, a Agência Americana de Proteção Ambiental (Environmental Protection Agency – USEPA), recomenda três métodos: Método 3050 B, Método 3051, Método 3052, dos quais dois métodos (3050 B e 3051) são para os teores extraíveis e um método (3052) para os tores totais[64–66].

O método 3050B é o método mais convencional, devido a utilização de béqueres e placas de aquecimento. O procedimento de digestão se dá pelo

ataque por ácido nítrico e água oxigenada, liberando os metais ligados à matéria orgânica, óxidos e outras frações minerais, com exceção da silicatada. A grande desvantagem deste método é o longo tempo para completar a digestão, podendo provocar riscos de perdas e contaminações.

Os métodos 3051 e 3052 utilizam aquecimento por micro-ondas e estão entre os mais utilizados para o preparo das amostras. As vantagens destes métodos são: menor tempo de digestão das amostras, melhor controle de contaminações, dissolução mais completa das amostras e menor perda dos elementos voláteis. No método 3051 a oxidação da matéria orgânica é realizada pelo ácido nítrico, mas, assim como no método 3050B, a fração silicatada não é solubilizada. Por isso é de bom senso explicitar que os resultados obtidos por tais métodos não são teores totais do solo, mas sim teores relacionados com elementos solubilizados por ácidos nítrico concentrado e cujos valores estão relacionados com a qualidade do solo. Já o método 3052 utiliza uma proporção variada de ácidos nítrico e fluorídrico, permitindo a dissolução total da amostra.

Porém, os perigos decorrentes da manipulação de HF levam muitos analistas envolvidos em análises de rotina a testar outras técnicas que, apesar de menos efetivas, são menos perigosas quando se está trabalhando com um grande número de amostras. Em relação a isso, assume-se que as frações não dissolvidas são irrelevantes em termos de biodisponibilidade[67].

Por este motivo, a preferência pelo uso de HNO_3 isoladamente ou em mistura com outros ácidos, como por exemplo, o HCl (água régia, $\text{HCl} + \text{HNO}_3 - 3:1$) é muito comum.

No entanto, cabe ressaltar que os métodos EPAs são métodos oficiais, reconhecidos e amplamente utilizados nos Estados Unidos e por muitos órgãos ambientais do mundo. No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA, através da resolução N° 420, DE 28 DE DEZEMBRO DE 2009[68], dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento

ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Estabelece a metodologia analítica para a extração das substâncias inorgânicas (exceto mercúrio) das amostras e preconizam a USEPA 3050 ou a USEPA 3051.

A recomendação e uso destes dois métodos que não fazem uso do ácido fluorídrico pelas normas ambientais, deve-se, basicamente, ao fato de permitirem a liberação dos elementos ligados às frações de matéria orgânica e de óxidos, mas não à fração silicatada. Portanto, das frações com grande potencial de contaminar o ambiente e os seres vivos[60,69].

A produção do material de referência de solo, tem como objetivo produzir um material que seja o mais próximo possível da realidade dos laboratórios e que seja útil para os mesmos. O preparo de amostra foi baseado na USEPA 3051, como exigido pela legislação, o qual recomenda a solubilização parcial da amostra de solo (100 a 500 mg) com ácido nítrico concentrado (10 mL), com aquecimento por radiação micro-ondas.

Os valores orientadores para qualidade do solo são estabelecidos pela resolução N° 420 do CONAMA, sendo que os valores de referência de qualidade são fornecidos pelos estados. Para o estado de São Paulo a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, CETESB, estabelece os valores de referência de qualidade. Na Tabela 3.6-1 estão os valores orientadores para qualidade do solo para os contaminantes[70].

Tabela 3.6-1 - Valores orientadores para qualidade do solo (mg kg⁻¹ de peso seco)[70].

Elemento	Referência de Qualidade	Prevenção	Investigação		
			Agrícola APMax	Residencial	Industrial
As	3,5	15	35	55	150
Cd	<0,5	1,3	3,6	14	160
Cr	40	75	150	300	400
Pb	17	72	150	240	4400

Na Tabela 3.6-2 é apresentado, para cada contaminante, uma comparação dos valores internacionais com os valores orientadores para solo (mg kg^{-1}), estabelecidos no Estado de São Paulo[71].

Tabela 3.6-2 - Comparação dos valores orientadores para solos do Estado de São Paulo com os valores Internacionais[71].

Elemento (mg kg^{-1})	Estado de São Paulo					Holanda	EUA		Alemanha			
	Val. Ref. de Qual.	Prev.	Investigação				SSL	Valores Gatilho				
			Agr	Res	Ind	(1)		Res	Ind.	Parq Inf	Res	Parq.
As	3,5	15	35	55	150	55	0,4	3,8	25	50	125	140
Cd	<0,5	1,3	3,6	14	160	12	78	2000	10	20	50	60
Cr	40	75	150	300	400	380	390	—	200	400	1000	1000
Pb	17	72	150	240	4400	530	400	—	200	400	1000	2000

São Paulo : Val.Ref.de Qual. – valores de referência de qualidade; Prev - prevenção; (—) não estabelecido ; Holanda - (1) : Multifuncionalidade; Agr – Agrícola; Res- Residencial; Ind – Industrial; Parq.Inf. – parque infantil; Paq- parque. Valor gatilho (trigger), o qual quando excedido, requer uma investigação caso a caso, considerando os usos do solo mais relevantes, identificando se existe perigo ou contaminação no local.

Capítulo 4

Procedimiento Experimental

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Preparo do material de referência

4.1.1 Obtenção do lote de solo

O solo utilizado neste trabalho foi um solo latossolo vermelho amarelo distrófico, textura média. Este solo foi artificialmente contaminado com As, Cd, Cr e Pb em trabalho de doutorado para a produção de material de referência de forrageira, previamente desenvolvido pela Doutora Carla Maíra Bossu na Embrapa Pecuária Sudeste, junto ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos. Neste solo foi cultivado, em casa de vegetação, a forrageira *Brachiaria brizantha Stapf. cv. Marandu*. Durante este experimento, calcário dolomítico ($1,43 \text{ t ha}^{-1}$), adubação com KCl, superfosfato simples e os contaminantes Cr, Pb, Cd e As foram adicionados ao solo. Os contaminantes foram adicionados na forma de soluções preparadas a partir dos seguintes sais: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, com concentrações finais equivalentes a 5,18; 2,8; 1,87 e 1,30 g/vaso respectivamente de chumbo, cádmio, arsênio e cromo[54].

Uma porção amostrada deste solo foi separada para a execução de análises físicas e químicas no laboratório de solos da Embrapa Pecuária Sudeste. As características químicas do solo foram: $\text{pH}_{\text{CaCl}_2} = 4,9$; $\text{pH}_{\text{água}} = 5,1$; $\text{M.O.} = 28 \text{ g dm}^{-3}$; $\text{C.T} = 16 \text{ g dm}^{-3}$; $\text{P}_{\text{resina}} = 12 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{K}_{\text{resina}} = 2 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Ca} = 20 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Mg} = 5 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{H+Al} = 38 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Al}^{3+} = 1 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{CTC} = 65 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{B} = 0,26 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Cu} = 0,8 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Fe} = 20 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Mn} = 2,2 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Zn} = 0,2 \text{ mg dm}^{-3}$ [69]. E as características físicas foram: areia = 637 g kg^{-1} ; argila = 312 g kg^{-1} ; e silte = 51 g kg^{-1} [72].

Conforme o triângulo de classificação textural de solos (Figura 4.1.1-1), o solo com essas características físicas possui uma classificação franco-argilo-arenosa[58].

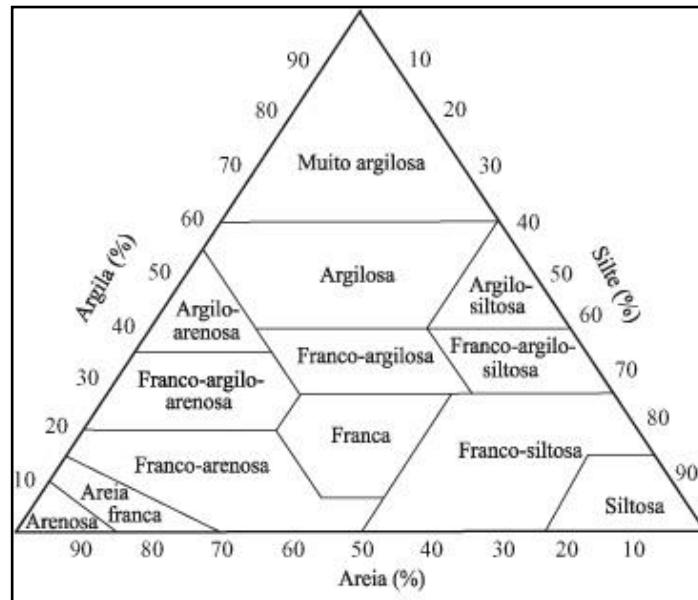


Figura 4.1.1-1 - Triângulo de classificação textural de solos[58].

4.1.2 Pré-tratamento

Amostras de solo provenientes dos diferentes vasos foram coletadas 12 meses após adição dos contaminantes, em um total aproximado de 65 kg, sendo misturadas e colocadas para secar a temperatura ambiente, sobre uma lona plástica em casa de vegetação na Embrapa Pecuária Sudeste durante quinze dias (Figura 4.1.2-1). Após a secagem, o material foi peneirado em uma peneira de malha de diâmetro 2 mm para retirada de resquícios de raízes do cultivo da forrageira.



Figura 4.1.2-1 - Secagem do solo a temperatura ambiente na casa de vegetação.

4.1.3 Moagem

O material seco foi submetido à moagem em um moinho de almofariz e pistilo da Marca Retch RM 200 (Alemanha) (Figura 4.1.3-1), com a finalidade da diminuição e o ajuste do tamanho de partículas do material. Para realizar a moagem utilizaram-se porções de 150 g, em um programa com duração de 8 min. Essa etapa demandou por volta de 45 dias e foi realizado de forma a evitar o aquecimento do moinho devido ao atrito, que poderia causar perdas de elementos voláteis, como o arsênio.

Após a moagem de todo material, o mesmo foi peneirado em uma peneira de malha de diâmetro 600 μm em agitador eletromagnético para peneiras da Marca Bertel (Figura 4.1.3-1). O peneiramento foi realizado em porções de 500 gramas em programa com duração de 10 min.

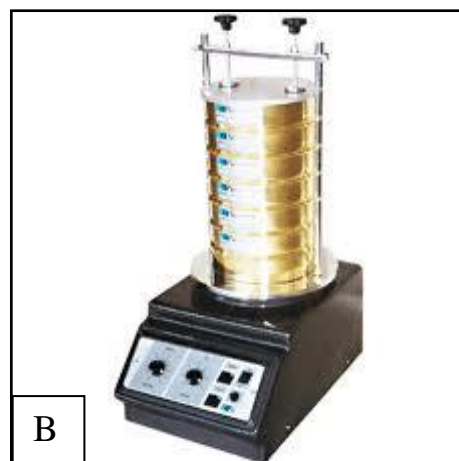
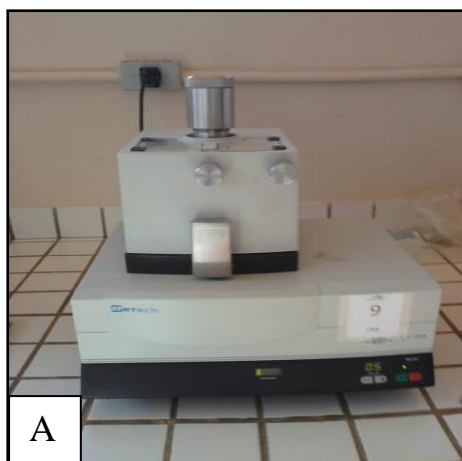


Figura 4.1.3-1 - Ajuste do tamanho de partícula utilizando o moinho de almofariz e pistilo (A) e a peneiradora vibratória (B).

4.1.4 Homogeneização

Para a homogeneização, o material foi separado em quatro baldes plásticos e homogeneizado em uma betoneira de Marca Metalpama (Figura 4.1.4-1) com 100 L de capacidade. A betoneira, própria para misturar solos, é revestida por resina epóxi inerte para evitar contaminações da amostra. Adicionou-se aproximadamente 45 kg de solo na betoneira, que foi acionada por 15 min. A seguir foram retirados cerca de 20 kg de solo e adicionados mais 20 kg, que foram homogeneizados por mais 15 min. Esse processo foi repetido até que todo material do balde fosse homogeneizado, contabilizando agitação final de 45 min.

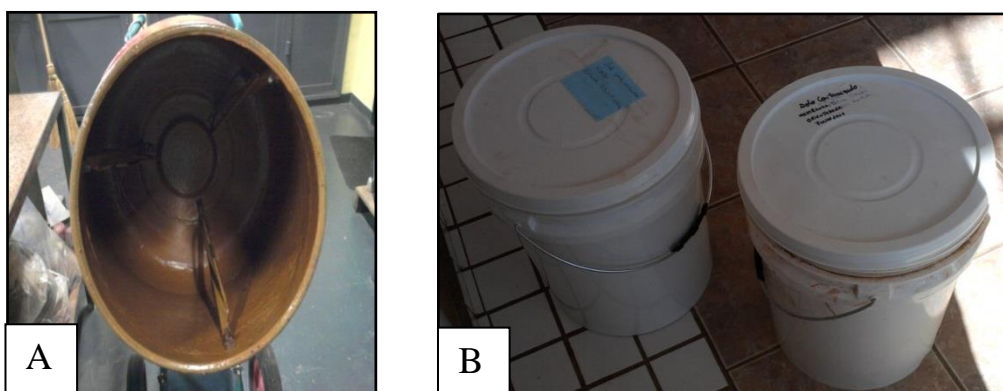


Figura 4.1.4-1 - Homogeneização do material utilizando a betoneira (A) e os baldes plásticos com o material após a moagem (B).

4.1.5 Envase

Após a homogeneização, o material foi envasado em 645 frascos de vidro âmbar (boca larga) de 150 mL com tampa plástica de rosca e disco de plexan interno (Samavidros, São Paulo, SP) previamente descontaminados. Para a descontaminação, os frascos foram lavados e imersos em HNO_3 10% (v/v) e secos em capela de fluxo laminar. O material de solo foi envasado utilizando uma balança de Marca Tecnal, sendo adicionado aproximadamente 100 g do material em cada frasco. Os frascos foram nomeados de 1 a 645. Em seguida as amostras foram encaminhadas ao Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares (IPEN) em São Paulo, para irradiação com raios gama (Co^{60}) (20 - 25 kGy) visando esterilização do material para aumento do seu tempo de prateleira.

Após irradiados, separou-se 50 frascos destinados à distribuição a laboratórios colaboradores para a caracterização do material. Os 595 frascos foram sorteados para os testes de homogeneidade e estabilidade a curto e a longo prazos (Figura 4.1.5-1).

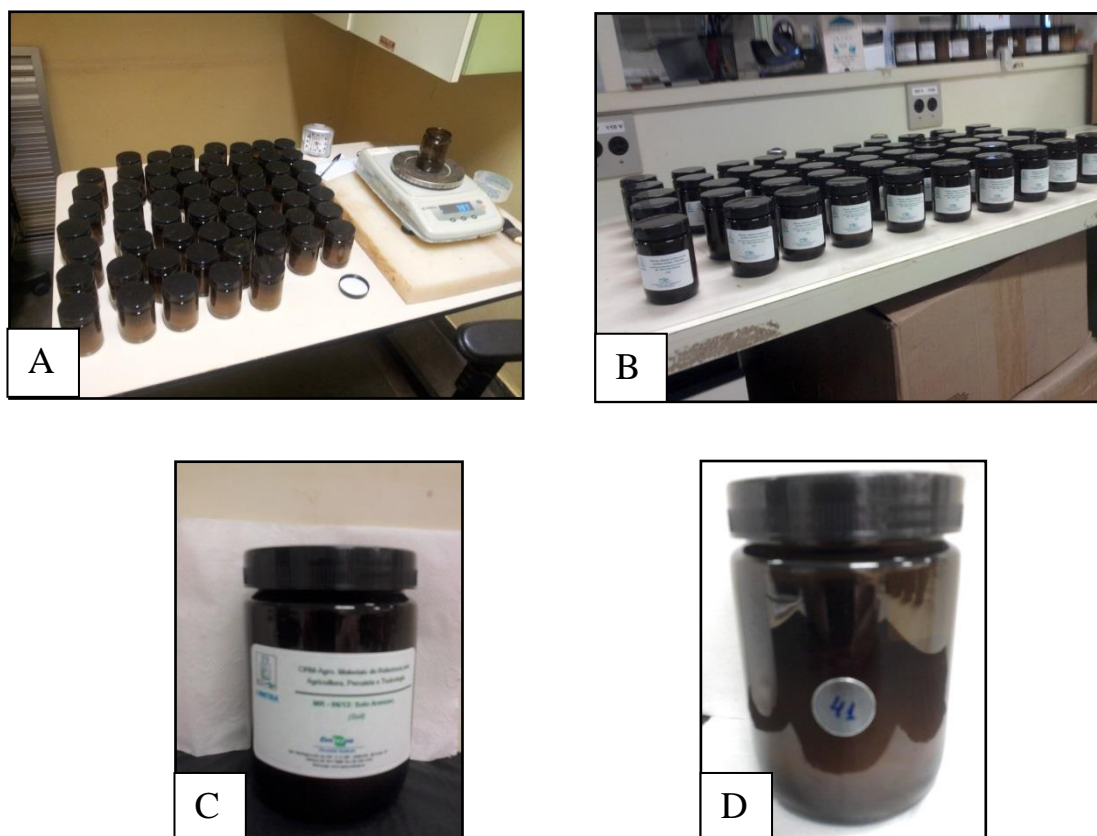


Figura 4.1.5-1 - Envase do material de solo em frascos âmbar (A); 50 frascos separados para distribuição aos laboratórios participantes do ensaio colaborativo; Frascos, contendo 100 gramas do material de solo arenoso, rotulados e enumerados (C e D).

4.1.6 Distribuição do tamanho de partícula

Um dos frascos candidato a MR de solo foi submetido a ensaio de distribuição de partícula (Analysette 22 MicroTec Plus, da Fritsch, Alemanha) no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, na Universidade de São Paulo (CENA, USP), Piracicaba-SP.

4.2 Determinação da umidade residual

Para a determinação da umidade do MR de solo por secagem em estufa, foram selecionados aleatoriamente 3 frascos (n° 123, 485 e 78). O ensaio consistiu na secagem do recipiente vazio durante 2 h (em estufa a 105 °C). Em seguida os recipientes foram retirados da estufa, colocados em dessecador por 1 h e pesados em balança analítica (precisão de 0,0001 g - Mettler AE200, Zurique, Suíça). Após os recipientes secos e pesados, adicionou-se 1 g de amostra de cada um dos 3 frascos nos diferentes recipientes e pesou-se novamente. Foram efetuadas seis repetições para cada um dos três frascos. Transferiram-se os recipientes com as amostras para estufa a 105 °C durante 24 h. As amostras foram retiradas da estufa e colocadas em dessecador por 1 h, sendo a seguir pesadas[73].

O cálculo foi realizado através da Equação (4.1):

$$Umidade(\%) = 100 - \frac{(a - b) \times 100}{c} \quad (4.1)$$

a = peso do recipiente + amostra seca após 24 h de estufa

b = peso do recipiente seco após 2 h de estufa

c = peso da amostra

4.3 Determinação dos elementos por espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente

4.3.1 Preparo da amostra

Um dos métodos de decomposição de amostras orgânicas e biológicas mais utilizados é a decomposição por via úmida. Este método implica no aquecimento da amostra na presença de um ácido mineral oxidante concentrado,

de mistura de ácidos oxidantes ou mistura de um ácido oxidante com peróxido de hidrogênio.

A decomposição de amostras de solo com ácidos oxidantes concentrados por meio de radiação micro-ondas, utilizando tubos reacionais resistentes à altas pressão e temperatura, tem a principal vantagem de ser um método de dissolução eficiente e rápido, e que propicia um mínimo de contaminação. Além disso, não há perda por volatilização dos elementos por ser um sistema fechado[60][74].

Após aquecimento, as amostras são oxidadas deixando os elementos a serem determinados na solução ácida em formas inorgânicas simples e apropriadas para analisar por ICP OES, técnica em que os limites de detecção são limitados pelo sinal do branco de preparo das amostras[60].

Levando-se em conta que alguns analitos a serem determinados no material possuem caráter volátil, a digestão em sistema fechado é a mais adequada. E tendo como objetivo o preparo do material de referência de solo mais próximo possível da realidade dos laboratórios e que seja útil para os mesmos, o preparo de amostra foi baseado na USEPA 3051[65], como descrito no item 3.6. Portanto, para as extrações das amostras foram utilizados $200 \pm 0,0005$ mg de amostra e adição de $10 \text{ mL} \pm 0,5 \text{ mL}$ de ácido nítrico (14 mol L^{-1}). A extração foi realizada por radiação micro-ondas em sistema fechado em rotor de 10 frascos de TFM[®] (Ethos 1, Millestone, Itália). Os extratos foram avolumados para $50 \text{ mL} \pm 5 \text{ mL}$ com água deionizada.

4.3.2 Quantificação dos elementos

A espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente, ICP OES, consiste na utilização do plasma para ionização e emissão de luz dos elementos a serem analisados. No plasma, as amostras transportadas em forma de aerossol sofrem dessolvatação, vaporização, dissociação e ionização, com emissão de luz (Figura 4.3.2-1). No espectrômetro de emissão, a luz emitida é

filtrada e as intensidades luminosas são medidas, por serem proporcionais às concentrações dos elementos a serem analisados[60,75].

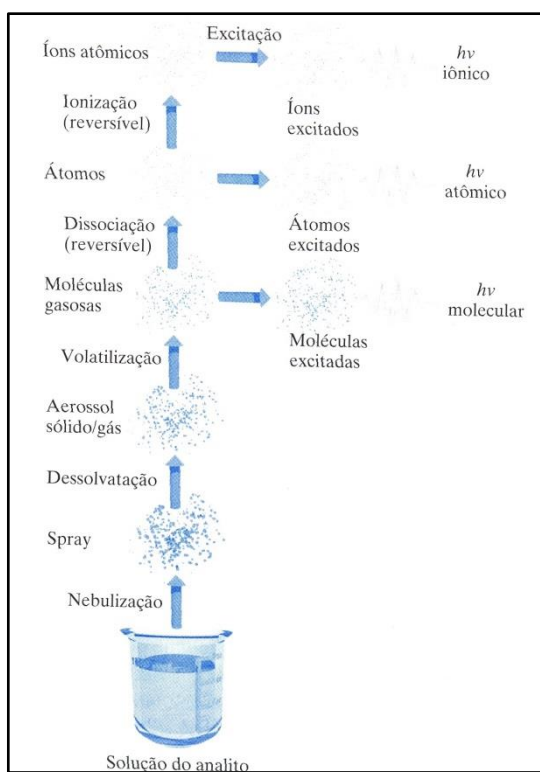


Figura 4.3.2-1 - Processos que levam à produção de átomos, moléculas e íons em sistemas[75].

Os elementos As, Cd, Pb, Cr, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn foram determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) utilizando um equipamento da THERMO, modelo icap 6000 series dual view, visão radial e axial, cujos parâmetros empregados estão descritos na Tabela 4.3.2-1.

Tabela 4.3.2-1 - Parâmetros instrumentais empregados na análise por ICP OES.

Parâmetros Instrumentais	ICP OES
Potência de rádio frequência	1150 W
Vazão do nebulizador	0,5 L min ⁻¹
Vazão do gás do plasma	12,0 L min ⁻¹
Vazão do gás auxiliar	0,5 L min ⁻¹
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de Nebulização	Ciclônica
Orientação da Tocha	Duo (Axial e Radial)
Comprimento de onda nm	As 189,0 (Radial)
	Ca 422,6 (Axial)
	Cd 228,802 (Axial)
	Cr 283,5 (Radial)
	Cu 224,7 (Radial)
	Fe 238,2 (Axial)
	K 769,8 (Radial)
	Mg 280,2 (Axial)
	Mn 259,3 (Radial)
	Na 589,5 (Axial)
	P 178,2 (Axial)
	Pb 220,3 (Axial)
	Zn 213,8 (Axial)

4.3.3 Reagentes e soluções

Para o preparo das soluções foram utilizados reagentes de grau analítico e água deionizada a 18 MΩ cm⁻¹ em sistema Milli-Q[®] (Millipore). Ácido nítrico (Synth, Diadema, São Paulo), usado para as digestões das amostras foi previamente purificado por destilação abaixo do ponto de ebulição utilizando um destilador de quartzo (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil).

As soluções estoque de todos os elementos foram preparadas a partir da diluição de solução padrão comercial 1000 mg L⁻¹ (Quemis, São Paulo, SP, Brazil).

4.3.4 Descontaminação das vidrarias

Todas as vidrarias utilizadas no trabalho foram lavadas com detergente neutro e água corrente, posteriormente enxaguadas com água destilada e colocadas em banho de HNO₃ 10 % (v/v) por no mínimo 24 h. Depois as vidrarias foram enxaguadas com água deionizada e levadas para secar em uma capela de fluxo laminar.

4.4 Estimativa da massa mínima da amostra candidata a material de referência

A ABNT ISO GUIA 34[11], recomenda estabelecer a massa mínima para a utilização do material candidato a material de referência. Analisando um intervalo de massa diferente da amostra, pode-se estimar a massa mínima do material. Portanto para o estudo da massa mínima, selecionou-se aleatoriamente 1 frasco (frasco n° 70), para determinar As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb e Zn. Foram avaliadas massas de 100, 200 e 300 mg. A análise foi realizada em triplicata para cada massa com a adição de 10 mL de HNO₃ concentrado conforme a USEPA 3051. Após a extração, as amostras foram diluídas para 50 mL com água deionizada e os analitos foram quantificados utilizando os parâmetros do ICP OES apresentados na Tabela 4.3.2-1.

A repetitividade do método foi avaliada através do desvio padrão relativo, RSD. Para se avaliar a existência de diferenças significativas entre os resultados obtidos nas diferentes massas utilizou-se a análise de variância, ANOVA.

4.5 Estimativa da homogeneidade da amostra candidata a material de referência

O teste de homogeneidade é crucial no processo de certificação do material de referência, pois garante que as amostras poderão ser tomadas de embalagens diferentes (frascos, pacotes, etc.).

Conforme descrito na ISO GUIDE 35[19], para o estudo da homogeneidade deve ser selecionado aleatoriamente um subconjunto entre 10 a 30 unidades do lote produzido. Portanto, 12 frascos do lote de 645 frascos foram selecionados aleatoriamente utilizando-se a ferramenta de números aleatórios do programa do Microsoft Office Excel®. Os frascos selecionados foram 56, 70, 72, 78, 84, 89, 95, 103, 123, 132, 142, 147. A análise foi realizada em triplicata, utilizando-se uma massa de 200 mg com a adição de 10 mL de HNO₃ concentrado, conforme descrito no item 4.3.1. Após a extração, as amostras foram diluídas para 50 mL com água deionizada e os elementos As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb e Zn foram quantificados utilizando os parâmetros do ICP OES apresentados na Tabela 4.3.2-1.

Utilizou-se o tratamento estatístico de análise de variância ANOVA para determinar a variabilidade dos resultados obtidos.

4.6 Estimativa da estabilidade da amostra candidata a material de referência

A estabilidade dos materiais de referência é um requisito essencial. Espera-se que os materiais de referência tenham uma longa vida de prateleira, resistindo à degradação devido a fatores como luz, oxidação, ação de micro-organismos, etc. Para isso existem dois tipos de estabilidade a serem considerados na certificação de materiais de referência: a estabilidade a longo prazo (que simula o tempo de prateleira) e a estabilidade a curto prazo (que simula a estabilidade do material durante as condições de transporte)[11].

O tratamento estatístico do estudo de estabilidade do candidato a MR foi avaliado pelo tratamento estatístico de análise de variância ANOVA.

4.6.1 Estabilidade a curto prazo

No teste de estabilidade a curto prazo, o objetivo do estudo é verificar se existe alguma alteração na característica do material sobre condição de armazenamento que não sejam as ideais, simulando uma condição de transporte, por exemplo.

Para este estudo três frascos do material de solo candidato a MR foram escolhidos aleatoriamente os frascos n° 228, 286, 372, utilizando-se a ferramenta de números aleatórios do programa do Microsoft Office Excel®. Os frascos foram submetidos a temperatura e umidade relativa extremas, durante 30 dias, dentro de um aparato. Trata-se de um vidro de boca larga com tampa, onde dentro dele foi colocado água e quatro vidros com água para amparar os frascos sorteados para o teste. A água garantiu a umidade relativa de 100%. O aparato com os frascos foi colocado dentro de estufa com temperatura controlada, como indicado na Figura 4.6.1-1.

A temperatura e a umidade foram monitoradas todos os dias, sendo estabelecidos temperatura média de 37 °C e umidade relativa de 100%. Após o tempo de exposição às condições extremas de temperatura e umidade relativa, os teores de As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Pb foram determinados em triplicata, para cada frasco em estudo, conforme procedimentos descritos nos itens 4.3.1 e 4.3.2.



Figura 4.6.1-1 - Procedimento para realizar o estudo da estabilidade a curto prazo no material de solo candidato a MR.

4.6.2 Estabilidade a longo prazo

A estabilidade a longo prazo, assim como o teste de homogeneidade é crucial no processo de certificação do material de referência. O teste irá garantir qual período para o qual os valores certificados estão garantidos, ou seja, o seu tempo de prateleira.

Para realizar este teste, 3 frascos (n° 536, 485, 623) foram sorteados aleatoriamente, armazenados a temperatura ambiente e, a cada 2 meses, por um período de 6 meses, foi realizada a quantificação dos analitos em estudo, em triplicata, como indicado na Figura 4.6.2-1.

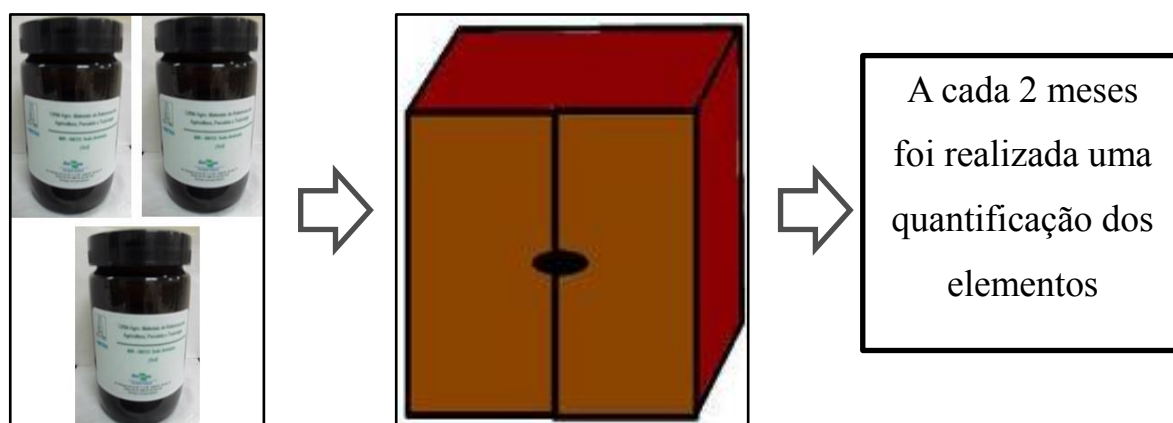


Figura 4.6.2-1 - Procedimento para realizar o estudo da estabilidade a longo prazo no material de solo candidato a MR.

4.7 Ensaio colaborativo

A ISO GUIDE 35 estabelece quatro abordagens tecnicamente válidas para caracterizar o material de referência. Tais abordagens incluem a realização de medições empregando-se: um método único, primário, definitivo em um único laboratório; por dois ou mais métodos de referência independentes em um laboratório; por uma rede de laboratórios qualificados que utilizam um ou mais métodos de exatidão demonstrável; uma abordagem de método específico (estudo interlaboratorial) que forneça apenas valores de propriedades avaliados para este método[19].

Neste trabalho foi empregado o método específico, através do ensaio colaborativo, que irá fornecer valores de propriedades avaliados e quando possível, diferentes técnicas analíticas.

Tendo em vista que o ensaio colaborativo é essencial para estabelecer o valor de propriedade dos elementos do material candidato a material de referência, o material candidato foi enviado para 21 laboratórios que se disponibilizaram a realizar as análises. Cada laboratório recebeu um frasco contendo 100g do material candidato, sendo que nove laboratórios enviaram os resultados, entre eles empresas da iniciativa privada, instituições de pesquisa estatais e de ensino superior (Tabela 4.7-1).

Os frascos contendo o material de solo candidato a material de referência foram distribuídos durante o 4º e o 5º Workshop “Ensaio de Proficiência para Laboratórios de Nutrição Animal – EPLNA, realizados na Embrapa Pecuária Sudeste em São Carlos, SP e pelo correio, a laboratórios de competência demonstrada que demonstraram interesse em participar do ensaio colaborativo.

Foi sugerido determinar os elementos que normalmente são analisados em seus laboratórios e requisitado que realizassem seis determinações de cada elemento.

O tratamento dos resultados do ensaio colaborativo foi feito com o emprego de diversas ferramentas estatísticas como o teste de Grubbs, teste de Cochran, índice Z e a análise de variância ANOVA.

As técnicas analíticas que foram utilizadas para a determinação dos elementos de interesse nos laboratórios que efetivamente participaram do ensaio colaborativo enviando os resultados foram FAAS, ICP OES, GF AAS, INAA e espectrofotométrico. Para o preparo de amostras, os laboratórios participantes utilizaram radiação micro-ondas (sistema fechado), exceto para a técnica de análise por ativação neutrônica instrumental.

Tabela 4.7-1 - Laboratórios participantes do ensaio colaborativo.

Laboratório Exata
CBO Assessoria e Análises
CENA – USP / Piracicaba - SP
Embrapa Solos
Embrapa Milho e Sorgo
Embrapa Pecuária Sudeste
Instituto Agrônomo - IAC
IPEN – CNEN/SP
Universidade Federal de São Carlos- Campus Araras

Capítulo 5

Resultados e Discussões

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção (LoD) equivale à menor concentração do analito de interesse que pode ser detectado, mas não necessariamente quantificado. O limite de quantificação (LoQ) é definido como a menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis, sob as condições experimentais adotadas. O LoD e o LoQ podem ser estimados por meio do sinal/ruído, do desvio-padrão e por processos estatísticos[76]. Foram utilizados os seguintes cálculos dos limites de LoD e LoQ[77]:

$$LoD = \frac{(3 \times RSDB \times BEC)}{100} \quad (5.1)$$

$$LoQ = \frac{(10 \times RSDB \times BEC)}{100} \quad (5.2)$$

Onde o BEC é calculado da seguinte forma:

$$BEC = \frac{(CH \times IB)}{(IH - IB)} \quad (5.3)$$

Onde:

CH é a concentração da solução de referência mais concentrada

IB é a intensidade do branco analítico

IH é a intensidade de emissão da referência mais concentrada

RSDB é o desvio padrão relativo do branco analítico

BEC é a intensidade do sinal de fundo

Os limites de detecção e quantificação calculados com base nas Equações (5.1 a 5.3), bem como a curva analítica, estão apresentados na Tabela 5.1-1. A correlação linear apresentou-se próxima à 0,999 para todos os elementos estudados.

Tabela 5.1-1 - Limites de detecção, quantificação, faixa linear, comprimento de onda e orientação da tocha na determinação dos elementos As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb e Zn, no solo candidato a MR por ICP OES.

Elemento	Curva Analítica (mg kg ⁻¹)	LoD (mg kg ⁻¹)	LoQ (mg kg ⁻¹)	Comprimento de onda (nm)	Orientação da tocha
As	0,01 – 2,5	0,014	0,048	189,0	Radial
Ca	0,01 – 2,5	0,035	0,117	422,6	Axial
Cd	0,01 – 2,5	0,0003	0,001	228,8	Axial
Cr	0,01 – 2,5	0,005	0,017	283,5	Radial
Cu	0,01 – 2,5	0,003	0,009	224,7	Radial
Fe	50 – 400	0,048	0,161	238,2	Axial
K	0,01 – 2,5	0,006	0,019	769,8	Radial
Mg	0,01 – 2,5	0,003	0,010	280,2	Axial
Mn	0,01 – 2,5	0,0009	0,003	259,3	Radial
Na	0,01 – 2,5	0,018	0,062	589,5	Axial
P	0,01 – 2,5	0,002	0,008	178,2	Axial
Pb	0,01 – 2,5	0,001	0,004	220,3	Axial
Zn	0,01 – 2,5	0,004	0,015	213,8	Axial

Foram escolhidas três linhas de emissão no ICP OES para cada elemento, sendo definido para os estudos futuros as linhas que apresentaram os melhores valores de recuperação em relação ao material de referência certificado de solo (San Joaquin Soil – NIST 2709 A) (Tabela 5.1-2). A carta de certificação fornecida pelo NIST se referem aos teores totais dos analitos. Os resultados apresentados obtidos pelo método 3051 são fornecidos como “valores informativos”.

Na Tabela 5.1-2 são apresentados os resultados obtidos, os quais se apresentaram dentro do intervalo do valor informativo para As, Cd, K, Mn e Pb, garantindo assim uma boa precisão nos resultados. Para P (cujo valor não consta no certificado), para os elementos Cr, Cu, Fe, Na e Zn (cujos valores obtidos foram superiores aos indicados) e Ca e Mg (cujo valores obtidos foram menores ao indicados), as linhas escolhidas foram as que apresentaram os menores valores de coeficiente de variação.

Tabela 5.1-2 - Média das concentrações, obtidas por ICP OES, para o material de referência certificado de San Joaquin Soil (NIST 2709A) (n=3).

Elemento	Determinado \pm DP (mg kg⁻¹)	Valor Informativo Extraível (mg kg⁻¹)
As	6,6 \pm 0,5	6,4 - 10
Ca	8287 \pm 76	12000 - 14000
Cd	0,47 \pm 0,01	0,33 – 0,66
Cr	76 \pm 2	46 – 67
Cu	37 \pm 0,4	24 – 28
Fe	30338 \pm 408	22000 - 26000
K	3487 \pm 64	2600 - 4000
Mg	1126 \pm 27	9700 - 11000
Mn	444 \pm 3	380 – 450
Na	639 \pm 5	460- 610
P	738 \pm 14	---
Pb	8,4 \pm 0,2	8,1 – 11
Zn	88 \pm 0,6	69 – 87

5.2 Distribuição do tamanho de partícula

Na Figura 5.2-1 apresenta-se o perfil de distribuição granulométrica típica do material de solo candidato a material de referência. Observa-se apenas um pico na curva, isto significa que a distribuição do tamanho de partícula do material tem uma distribuição homogênea. Este resultado é muito importante, pois distribuições granulométricas multimodais podem inviabilizar a

homogeneidade do material candidato a MR. O estudo mostrou que 90% das partículas apresentavam granulometria inferior a 390 μm .

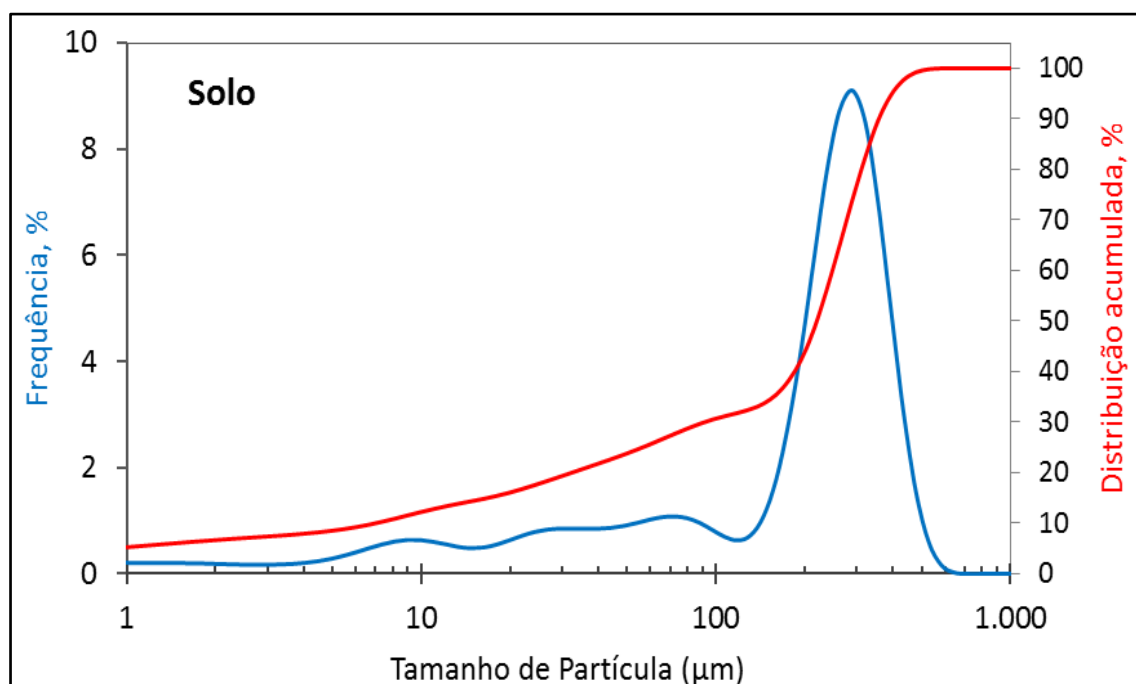


Figura 5.2-1 - Curva da distribuição granulométrica do material de solo candidato a material de referência.

5.3 Determinação da umidade residual

O teor de umidade residual do material de solo foi determinado em amostra de massa aproximada de 1 g após secagem em estufa a 105°C por 24h. Foi observado resultado médio de $1,07 \pm 0,23$ (n=18). Na Tabela 5.3-1 é apresentada a umidade residual realizado em três frascos do material de solo candidato MR.

Tabela 5.3-1 - Umidade residual ao candidato MR de solo determinado em estufa a 105°C por 24 h.

Frasco	Umidade ^a , %	Número de Determinações
123	$1,14 \pm 0,37$	6
485	$1,00 \pm 0,08$	6
78	$1,07 \pm 0,15$	6
Média final	$1,07 \pm 0,23$	18

^amédia e desvio padrão

5.4 Estudo da massa mínima da amostra candidato a material de referência

Na Tabela 5.4-1 são apresentados os resultados da média das concentrações obtidos por ICP OES a partir de diferentes massas de amostra (100 mg, 200 mg e 300 mg), em triplicata.

Tabela 5.4-1 - Frações de massa de As, Cd, Cr, Pb, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn obtidas nas porções amostradas em digestão em micro-ondas com cavidade (n=3).

Elementos	100 mg		200 mg		300 mg	
	Média ±	RSD	Média ±	RSD	Média ±	RSD
	Desvio	%	Desvio	%	Desvio	%
As (mg kg ⁻¹)	62,91 ± 2,25	3,58	59,32 ± 0,93	1,56	59,59 ± 1,71	2,87
Ca (mg kg ⁻¹)	321,73 ± 13,61	4,23	328,13 ± 9,26	2,82	314,57 ± 2,86	0,91
Cd (mg kg ⁻¹)	89,84 ± 2,89	3,21	94,40 ± 2,88	3,05	94,10 ± 3,48	3,69
Cr (mg kg ⁻¹)	161,91 ± 4,18	4,58	158,18 ± 2,97	1,88	158,82 ± 3,99	2,51
Cu (mg kg ⁻¹)	10,59 ± 0,34	3,2	11,03 ± 0,41	3,71	10,47 ± 0,48	4,55
Fe (g kg ⁻¹)	62,92 ± 1,50	2,38	61,02 ± 0,74	1,21	59,21 ± 5,93	10,01
K (mg kg ⁻¹)	249,38 ± 14,66	5,88	244,01 ± 6,64	2,72	246,29 ± 1,77	4,48
Mg (mg kg ⁻¹)	373,22 ± 9,35	2,51	362,14 ± 20,05	5,54	365,03 ± 6,89	1,89
Mn (mg kg ⁻¹)	154,59 ± 2,29	1,48	153,52 ± 0,59	0,39	151,38 ± 0,45	0,3
Na (mg kg ⁻¹)	77,27 ± 0,75	0,97	78,21 ± 1,21	1,55	76,01 ± 1,59	2,1
P (mg kg ⁻¹)	243,19 ± 0,93	0,38	241,21 ± 3,97	1,64	238,19 ± 2,82	1,18
Pb (mg kg ⁻¹)	172,41 ± 4,02	2,33	168,73 ± 2,47	1,46	165,41 ± 4,94	2,99
Zn (mg kg ⁻¹)	14,84 ± 1,48	9,96	15,86 ± 0,27	1,68	15,24 ± 1,13	7,44

Foi realizada a análise de variância ANOVA de fator único dentro de um intervalo de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$) para avaliar se existem diferenças entre as três massas amostradas. Na Tabela 5.4-2 são apresentados os dados estatísticos da variância ANOVA. Para avaliação comparou-se o valor de $F_{\text{crítico}}$ em relação ao valor do $F_{\text{calculado}}$ para cada elemento. Observou-se que não houve

diferença estatística entre as três massas, ou seja, o $F_{\text{calculado}}$ foi menor que o $F_{\text{crítico}}$.

Uma vez que não existem diferenças significativas entre os resultados obtidos pelas diferentes massas originalmente avaliadas, foi definida a quantidade que resultou no menor desvio padrão relativo (RSD). Dessa forma, foi estabelecida a massa de 200 mg para os estudos futuros, sendo obtidos os menores desvios para As, Cd, Cr, Fe, K, Pb e Zn.

É importante lembrar que, segundo a norma ABNT ISO GUIA 33, convém que o usuário esteja ciente que a utilização de uma porção de ensaio que não atenda ou que exceda aquela especificada pode aumentar significativamente a contribuição da não homogeneidade do MRC para a incerteza da propriedade especificada, até o ponto em que os parâmetros estatísticos da certificação não são mais válidos.

Tabela 5.4-2 – Dados da ANOVA fator único para a estimativa da massa mínima da amostra candidato a material de referência.

Elemento	Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F calculado	Valor-p	F ^a crítico
As	Entre Frascos	23,97	2	11,98	4,06	0,08	5,14
	Dentre Frascos	17,69	6	2,94			
	Total	41,66	8				
Ca	Entre Frascos	276,29	2	138,14	1,48	0,30	5,14
	Dentre Frascos	558,53	6	93,08			
	Total	834,82	8				
Cd	Entre Frascos	39,04	2	19,52	2,04	0,21	5,14
	Dentre Frascos	57,43	6	9,57			
	Total	96,47	8				
Cr	Entre Frascos	23,93	2	11,96	0,85	0,47	5,14
	Dentre Frascos	84,39	6	14,06			
	Total	108,33	8				
Cu	Entre Frascos	0,51	2	0,25	1,50	0,30	5,14
	Dentre Frascos	1,02	6	0,17			

	Total	1,53	8				
	Entre Frascos	20,67 E+06	2	10,34 E+06	0,82	0,48	5,14
Fe	Dentre Frascos	75,77 E+06	6	12,63 E+06			
	Total	96,45 E+06	8				
	Entre Frascos	43,69	2	21,84	0,16	0,85	5,14
K	Dentre Frascos	795,44	6	132,57			
	Total	839,14	8				
	Entre Frascos	197,87	2	98,93	0,55	0,60	5,14
Mg	Dentre Frascos	1073,41	6	178,90			
	Total	1271,28	8				
	Entre Frascos	15,96	2	7,98	4,14	0,07	5,14
Mn	Dentre Frascos	11,58	6	1,93			
	Total	27,54	8				
	Entre Frascos	7,33	2	3,68	2,40	0,17	5,14
Na	Dentre Frascos	9,15	6	1,52			
	Total	16,49	8				
	Entre Frascos	43,69	2	21,84	0,16	0,85	5,14
P	Dentre Frascos	795,44	6	132,57			
	Total	839,14	8				
	Entre Frascos	73,70	2	36,85	2,37	0,17	5,14
Pb	Dentre Frascos	93,19	6	15,53			
	Total	166,89	8				
	Entre Frascos	1,58	2	0,79	0,67	0,55	5,14
Zn	Dentre Frascos	7,08	6	1,18			
	Total	8,66	8				

SQ: Soma Quadrática; g.l.: Grau de Liberdade; MQ: Média Quadrática; ^aFerítico para $\alpha = 0,05$

5.5 Estimativa da homogeneidade da amostra de solo candidata a material de referência

O estudo de homogeneidade entre frascos é utilizado para se garantir que não há variação nas propriedades de interesse ao longo do lote de frascos do material, sendo também utilizado na estimativa da contribuição da

heterogeneidade residual para a incerteza dos valores certificados. A incerteza do valor certificado em função da heterogeneidade residual deve ser pequena ou desprezível se comparadas às representadas pela estabilidade e pela caracterização do material, visto que o teste de homogeneidade é uma das etapas mais importantes de um trabalho de desenvolvimento de materiais de referência, pois certifica a confiabilidade de qualidade ao material de referência.

Para avaliar se há ou não homogeneidade dos elementos no lote do material de solo candidato a material referência foi utilizado ANOVA fator único no nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$) como ferramenta estatística[19]. A ANOVA verifica se há diferenças significativas nas concentrações dos elementos ao longo dos frascos, por meio do teste F. Portanto quando o $F_{\text{calculado}}$ for menor que o $F_{\text{crítico}}$, aceita-se que há homogeneidade entre as amostras em um nível de confiança de 95%. A Tabela 5.5-1 mostra os dados da ANOVA fator único no nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

Foi realizado o teste de Grubbs para exclusão de *outliers*. Entretanto, a um nível de 95% de confiança, nenhum frasco foi considerado *outlier*, ou seja, nenhum frasco foi retirado para o teste de homogeneidade interamostral, porém, algumas réplicas foram consideradas *outlier* para os analitos Cd, Pb e Mn.

O teste de Grubbs (G) (Equação (5.4)) foi determinado por meio da razão entre a diferença de cada resultado (x_i) com a média de todos os resultados (\bar{X}) em relação ao desvio padrão (s). Se o valor de “G” é maior que o valor crítico correspondente a valores tabelados o valor suspeito é considerado como *outlier* a um nível de significância de 95% (<http://www.graphpad.com/quickcalcs/Grubbs1.cfm>)[78].

$$G = \frac{(x_i - \bar{X})}{s} \quad (5.4)$$

Tabela 5.5-1 – Dados da ANOVA fator único para o estudo de homogeneidade entre os frascos da amostra de solo candidata a MR.

Elemento	Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F calculado	Valor-p	F ^a crítico
As	Entre Frascos	59,20	11	5,38	0,84	0,60	2,22
	Dentre Frascos	153,20	24	6,38			
	Total	212,40	35				
Ca	Entre Frascos	5334,52	11	484,96	0,83	0,62	2,22
	Dentre Frascos	14090,12	24	587,09			
	Total	19424,64	35				
Cd	Entre Frascos	225,93	11	20,54	2,13	0,06	2,26
	Dentre Frascos	212,01	22	9,64			
	Total	437,94	33				
Cr	Entre Frascos	408,84	11	37,17	0,70	0,72	2,22
	Dentre Frascos	1267,84	24	52,83			
	Total	1676,68	35				
Cu	Entre Frascos	5,47	11	0,50	1,42	0,23	2,22
	Dentre Frascos	8,38	24	0,35			
	Total	13,85	35				
Fe	Entre Frascos	25,73 E+06	11	23,39 E+05	1,79	0,11	2,22
	Dentre Frascos	31,43 E+06	24	13,09 E+05			
	Total	57,16 E+06	35				
K	Entre Frascos	1160,87	11	105,53	0,83	0,61	2,22
	Dentre Frascos	3041,49	24	126,73			
	Total	4202,36	35				
Mg	Entre Frascos	3619,77	11	329,07	0,42	0,93	2,22
	Dentre Frascos	18804,13	24	783,51			
	Total	22423,90	35				
Mn	Entre Frascos	1025,81	11	93,26	2,10	0,07	2,26
	Dentre Frascos	975,13	22	44,32			
	Total	2000,94	33				
Na	Entre Frascos	201,92	11	18,36	1,20	0,34	2,22
	Dentre Frascos	367,65	24	15,32			
	Total	569,57	35				

P	Entre Frascos	1316,12	11	119,65	1,81	0,11	2,22
	Dentre Frascos	1590,13	24	66,26			
	Total	2906,25	35				
Pb	Entre Frascos	734,69	11	66,79	1,89	0,10	2,26
	Dentre Frascos	779,11	22	35,41			
	Total	1513,79	33				
Zn	Entre Frascos	37,28	11	3,39	6,08	0,0001	2,22
	Dentre Frascos	13,39	24	0,56			
	Total	50,67	35				

SQ: Soma Quadrática; g.l.: Grau de Liberdade; MQ: Média Quadrática; ^aF_{crítico} para $\alpha = 0,05$

Dessa forma, considera-se valor crítico de $F_{11, 24} (\alpha = 0,05) = 2,22$, para os analitos As, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn e o valor crítico de $F_{11, 22} (\alpha = 0,05) = 2,26$, para os analitos Cd, Pb e Mn. É possível observar na Tabela 5.5-1 que os analitos As, Cd, Cr, Pb, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e P, não apresentaram diferenças estatísticas significativas podendo serem considerados homogêneos nos frascos do material candidato a MR de solo. Para o Zn houve diferença estatística significativa e, dessa forma, o material não foi considerado homogêneo para esse analito ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}} (6,08 > 2,22)$).

5.6 Estimativa da estabilidade da amostra de solo candidato a material de referência

5.6.1 Estabilidade a curto prazo

A seguir são apresentadas as Figura 5.6.1-1 a Figura 5.6.1-12, que representam os resultados referentes às réplicas ($n=3$) de cada frasco em estudo, juntamente com o frasco controle para As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Pb. Os frascos controle foram analisados antes de serem submetidos às condições extremas de temperatura e umidade.

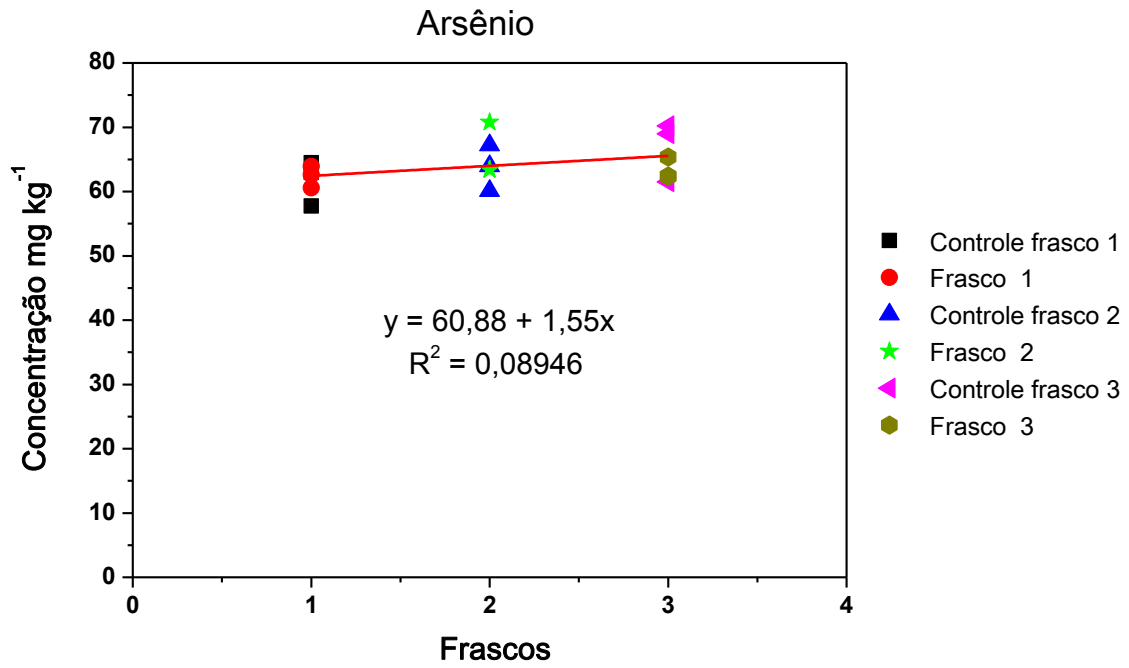


Figura 5.6.1-1 – Estabilidade a curto prazo para arsênio.

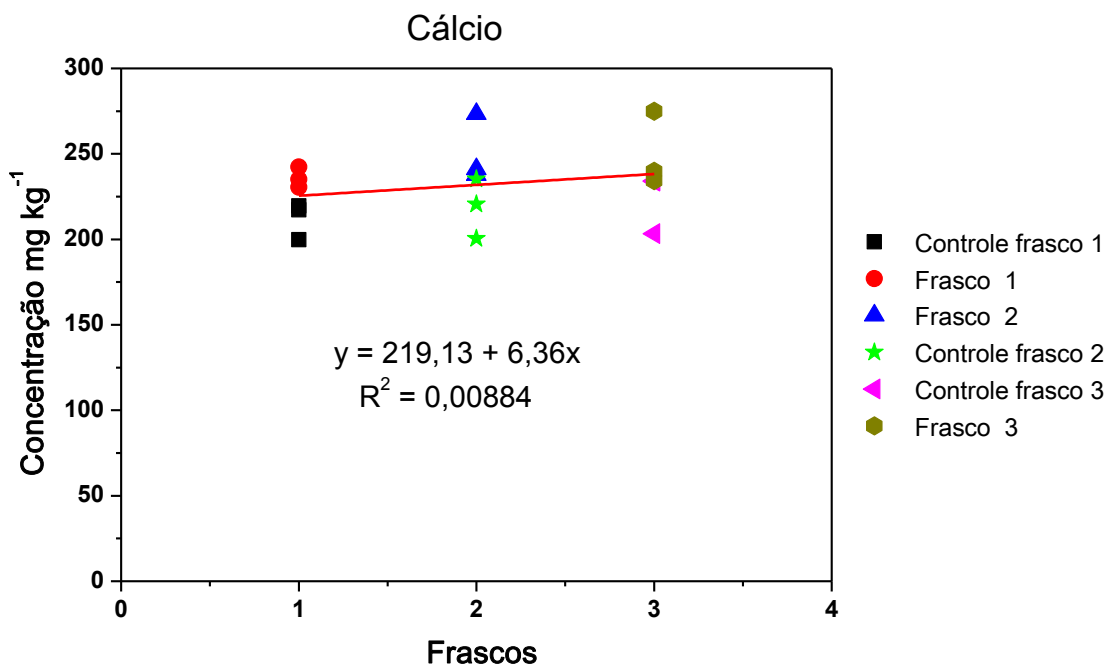


Figura 5.6.1-2 - Estabilidade a curto prazo para cálcio.

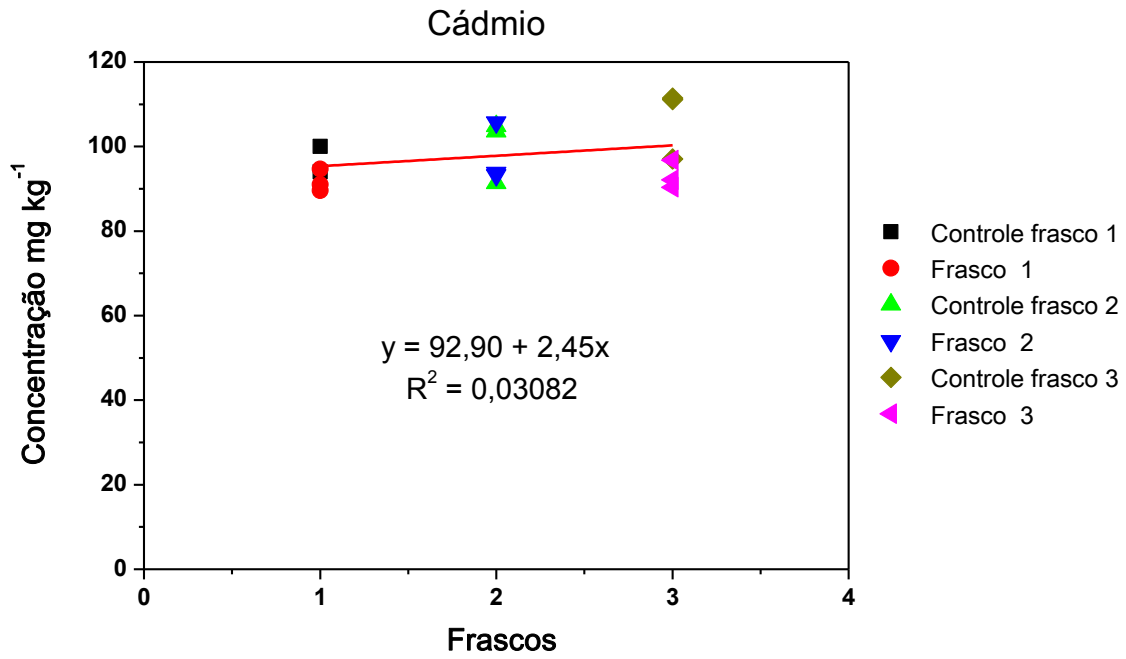


Figura 5.6.1-3 - Estabilidade a curto prazo para cádmio.

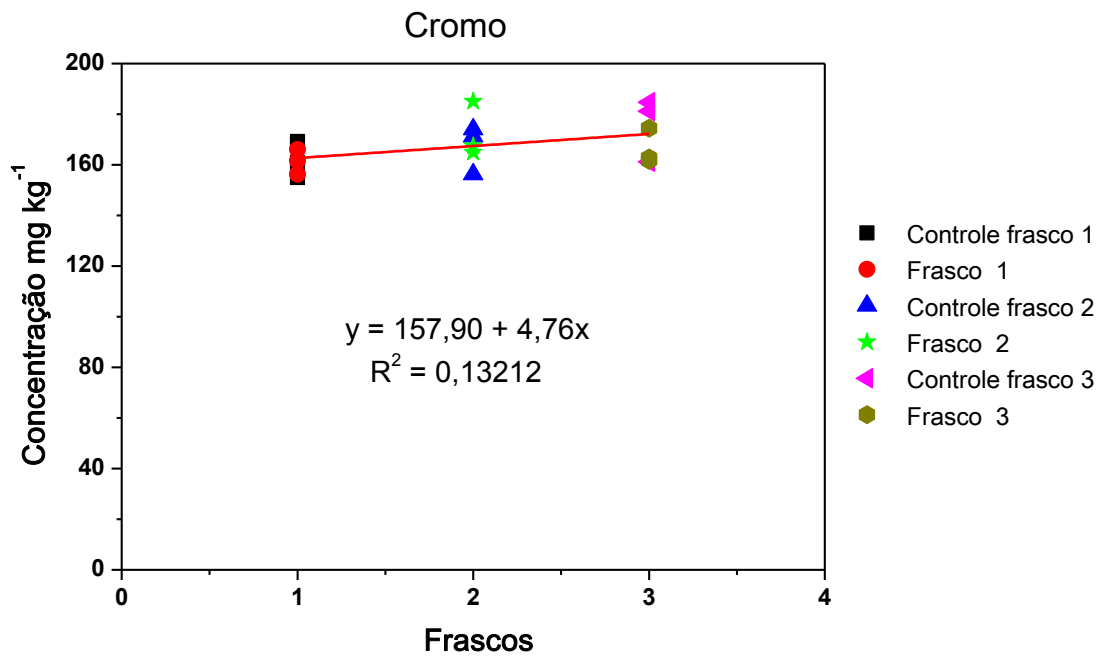


Figura 5.6.1-4 - Estabilidade a curto prazo para cromo.

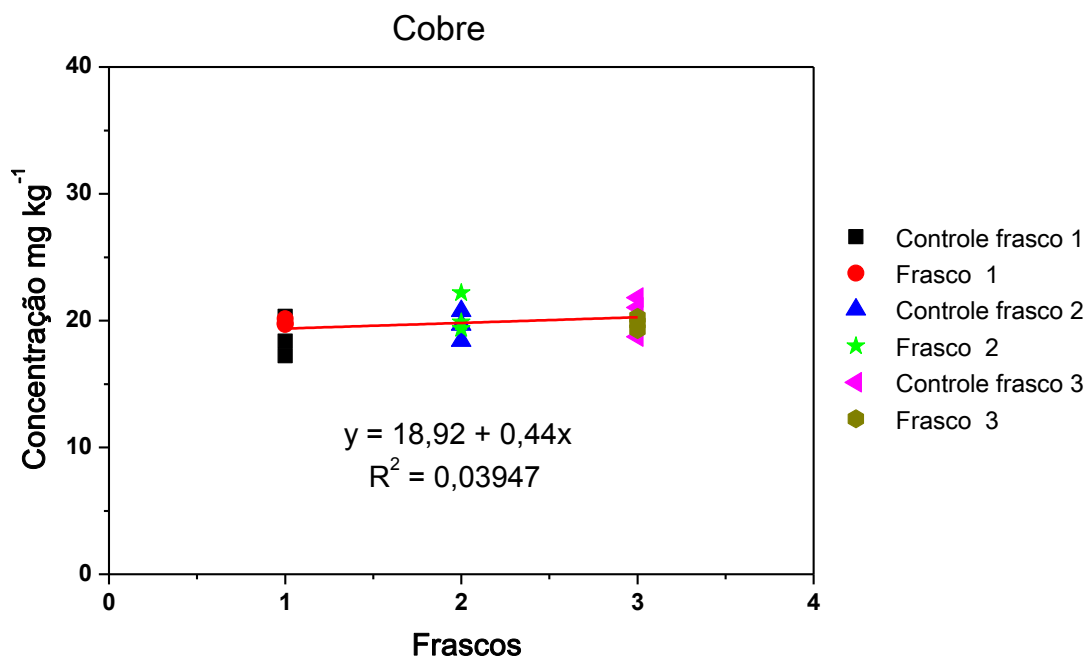


Figura 5.6.1-5 - Estabilidade a curto prazo para cobre.

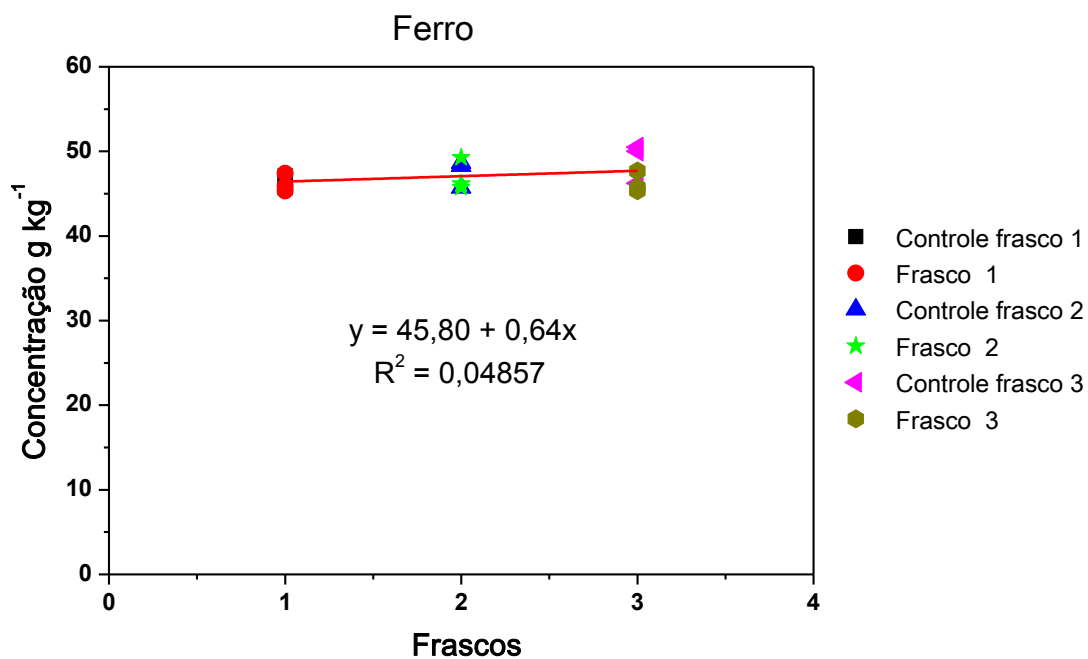


Figura 5.6.1-6 - Estabilidade a curto prazo para ferro.

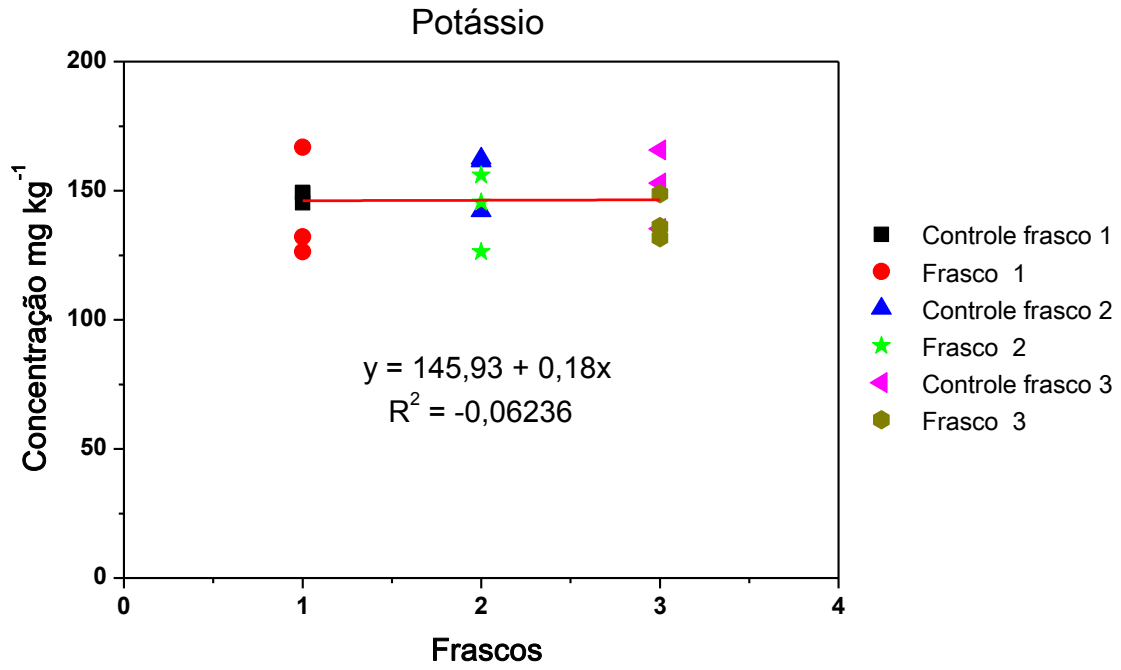


Figura 5.6.1-7 - Estabilidade a curto prazo para potássio.

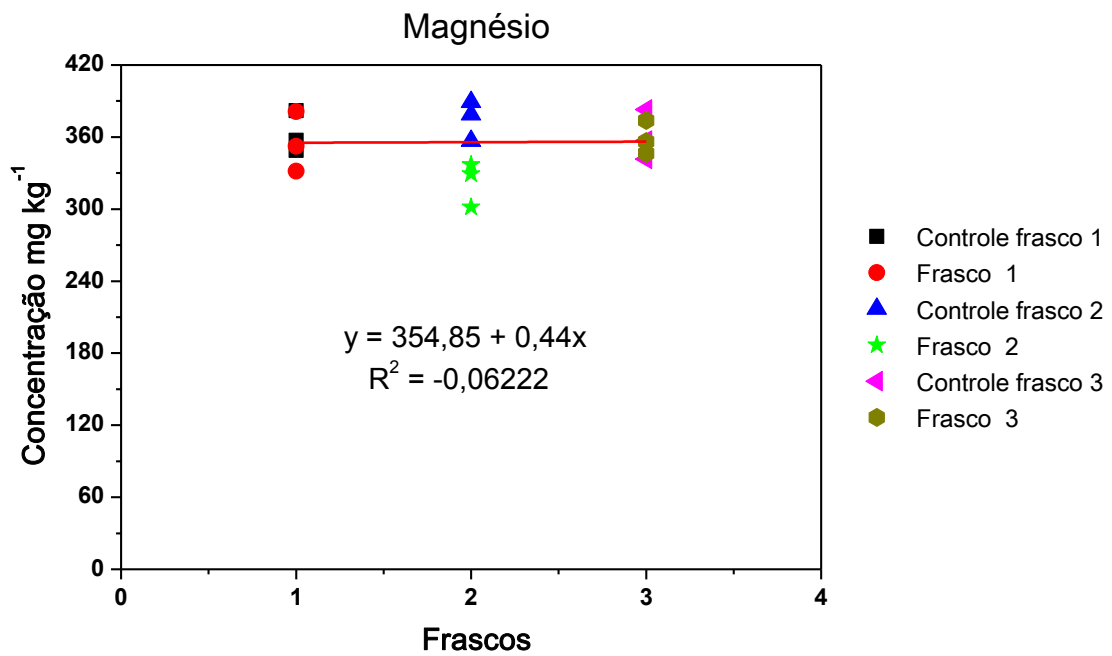


Figura 5.6.1-8 - Estabilidade a curto prazo para magnésio.

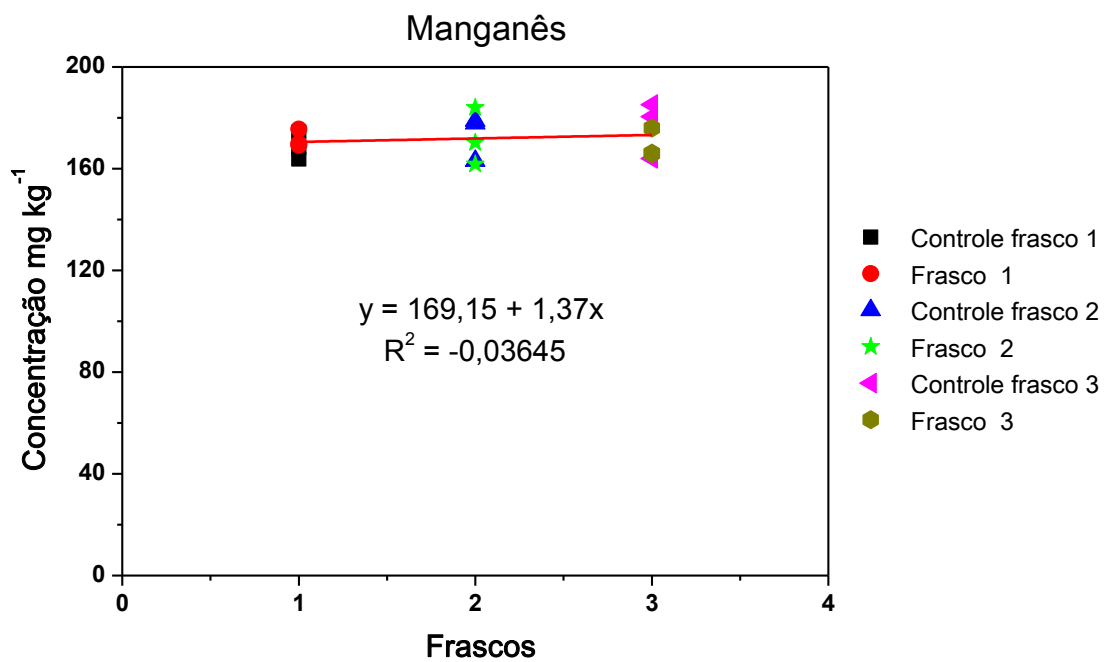


Figura 5.6.1-9 - Estabilidade a curto prazo para manganês.

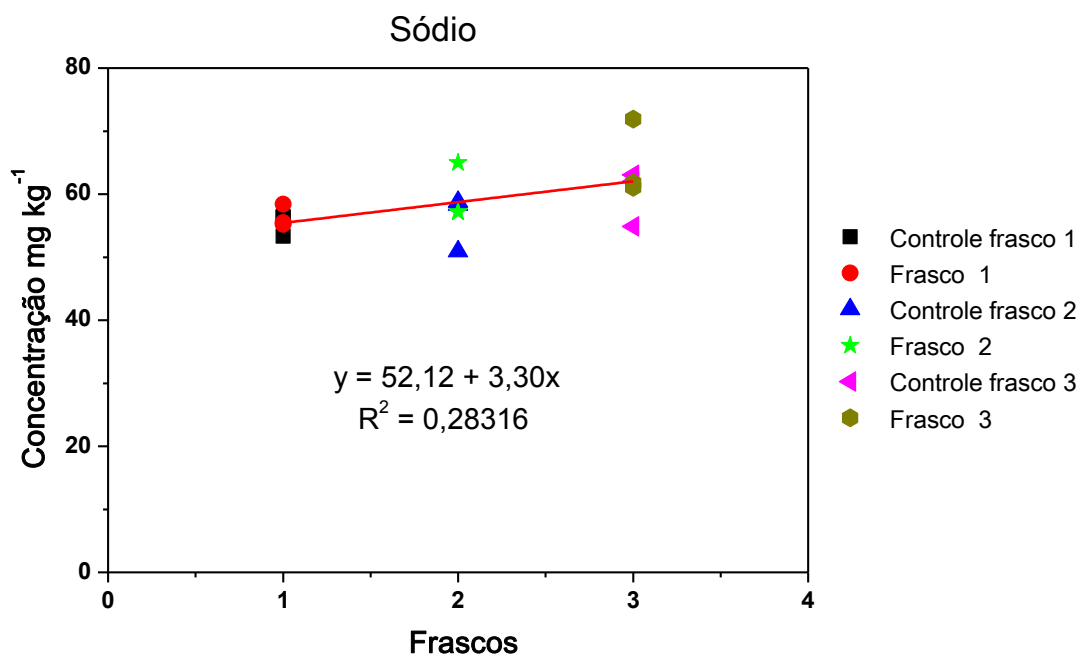


Figura 5.6.1-10 - Estabilidade a curto prazo para sódio.

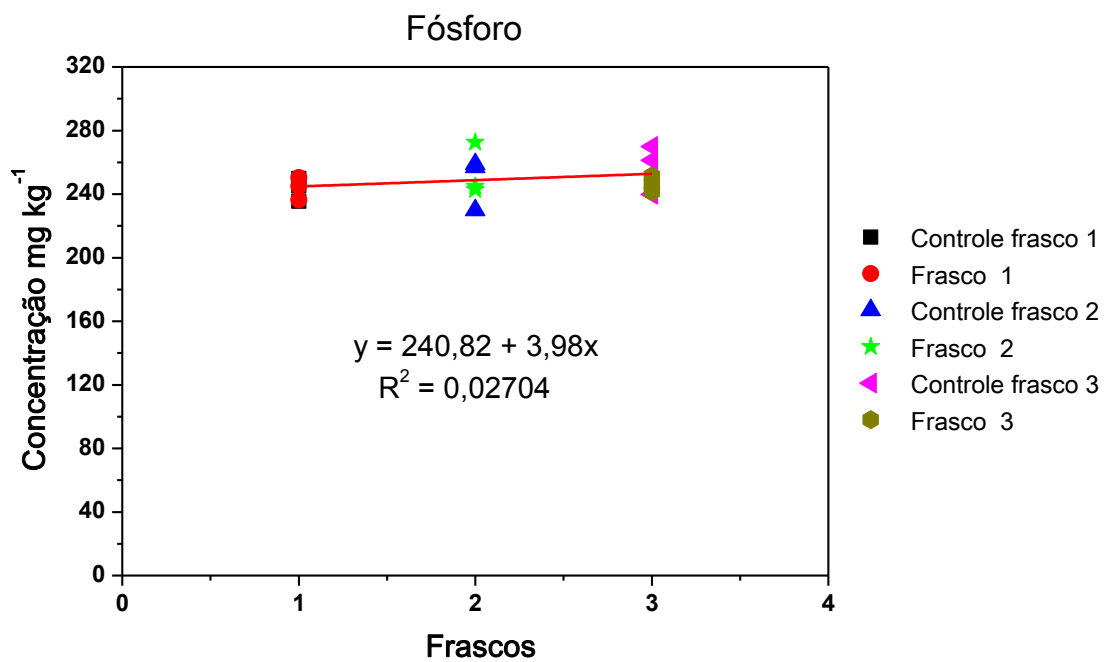


Figura 5.6.1-11 - Estabilidade a curto prazo para fósforo.

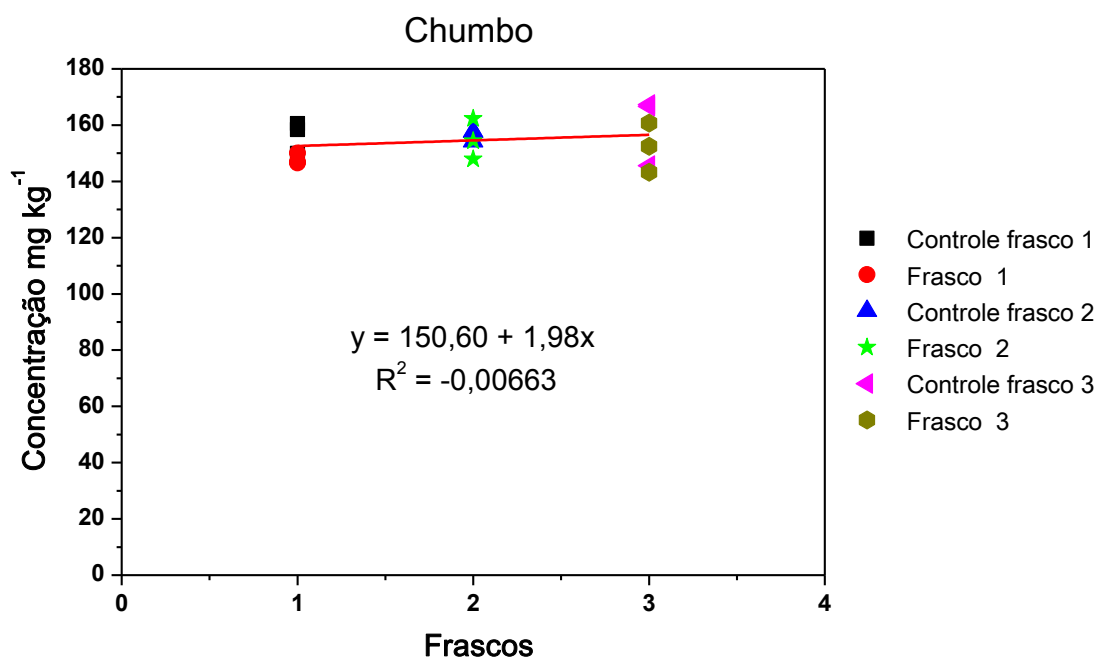


Figura 5.6.1-12 - Estabilidade a curto prazo para chumbo.

Graficamente, não são observadas diferenças discrepantes entre as concentrações dos elementos estudados nos frascos que foram submetidos a 37°C e 100% de umidade relativa em relação ao frasco controle para a maioria dos elementos, exceto para cálcio, quando foram observadas diferenças nos frascos 2 e 3. Porém estatisticamente o Ca foi considerado estável. Para avaliar a estabilidade a curto prazo dos elementos do material de solo candidato a material referência foi utilizado ANOVA fator único no nível de significância de 95% ($\alpha = 0,05$) como ferramenta estatística, como indicado na Tabela 5.6.1-1.

Tabela 5.6.1-1- Dados da ANOVA fator único dos frascos armazenados a 37°C e UR de 100% por um mês, para o estudo de estabilidade a curto prazo da amostra de solo candidata a MR.

Elemento	Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F calculado	Valor-p	F ^a crítico
As	Entre Frascos	60,58	5	12,11	1,02	0,45	3,11
	Dentre Frascos	142,43	12	11,86			
	Total	203,01	17				
Ca	Entre Frascos	3951,04	5	790,20	2,88	0,06	3,11
	Dentre Frascos	3294,30	12	274,52			
	Total	7245,35	17				
Cd	Entre Frascos	419,36	5	83,87	2,47	0,09	3,11
	Dentre Frascos	406,68	12	33,89			
	Total	826,05	17				
Cr	Entre Frascos	258,77	5	51,76	0,97	0,47	3,11
	Dentre Frascos	641,50	12	53,45			
	Total	900,28	17				
Cu	Entre Frascos	7,04	5	1,40	0,94	0,49	3,11
	Dentre Frascos	17,96	12	1,49			
	Total	25,01	17				
Fe	Entre Frascos	16,39 E+06	5	32,77 E+05	1,31	0,32	3,11
	Dentre Frascos	30,12 E+06	12	25,10 E+05			
	Total	46,59 E+06	17				
K	Entre Frascos	595,37	5	119,07	0,62	0,69	3,11
	Dentre Frascos	2309,80	12	192,48			

	Total	2905,18	17					
	Entre Frascos	4637,74	5	927,54	2,57	0,08	3,11	
Mg	Dentre Frascos	4338,29	12	361,52				
	Total	8976,04	17					
	Entre Frascos	118,65	5	23,73	0,36	0,87	3,11	
Mn	Dentre Frascos	800,89	12	66,74				
	Total	919,54	17					
	Entre Frascos	197,22	5	39,44	2,30	0,11	3,11	
Na	Dentre Frascos	205,78	12	17,14				
	Total	403,00	17					
	Entre Frascos	441,31	5	88,26	0,58	0,71	3,11	
P	Dentre Frascos	1813,88	12	151,15				
	Total	2255,20	17					
	Entre Frascos	496,87	5	99,37	1,20	0,37	3,11	
Pb	Dentre Frascos	992,37	12	82,69				
	Total	1489,24	17					

SQ: Soma Quadrática; g.l.: Grau de Liberdade; MQ: Média Quadrática; ^aF_{crítico} para $\alpha = 0,05$

Ao se verificar os valores estatísticos da ANOVA dos frascos armazenados a temperatura de 37°C e umidade relativa de 100% em relação ao frasco controle mantido à temperatura de 25°C apresentada na Tabela 5.6.1-1, observou que o $F_{\text{crítico}}$ foi maior que $F_{\text{calculado}}$ para os elementos As, Cd, Cr, Pb, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e P, considerando-se valor crítico de $F_{5,12}(\alpha = 0,05) = 3,11$.

Dessa forma, o teste mostrou que, no nível de confiança 95%, não houve diferenças estatísticas significativas, podendo ser considerados estáveis nas condições avaliadas no estudo para os analitos As, Cd, Pb, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e P. Portanto, o material é estável o suficiente para ser transportado sem alterações significativas na composição química do material.

5.6.2 Estabilidade a longo prazo

A seguir são apresentadas as Figura 5.6.2-1 a Figura 5.6.2-12, que indicam os resultados referentes às réplicas de cada frasco (n=9) para As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Pb ao longo dos 6 meses de estudo. Graficamente não foi observada tendência na inclinação da reta para a maioria dos elementos, tendo um R^2 muito pequeno, mostrando que as amostras permaneceram estáveis ao longo do período de estudo quando comparado com os valores obtidos pela amostra controle. O cálcio apresentou uma tendência na concentração que pode ter sido devido a contaminação nos meses 2, 4 e 6 ou um problema na metodologia no início do estudo, porém estatisticamente foi considerado estável.

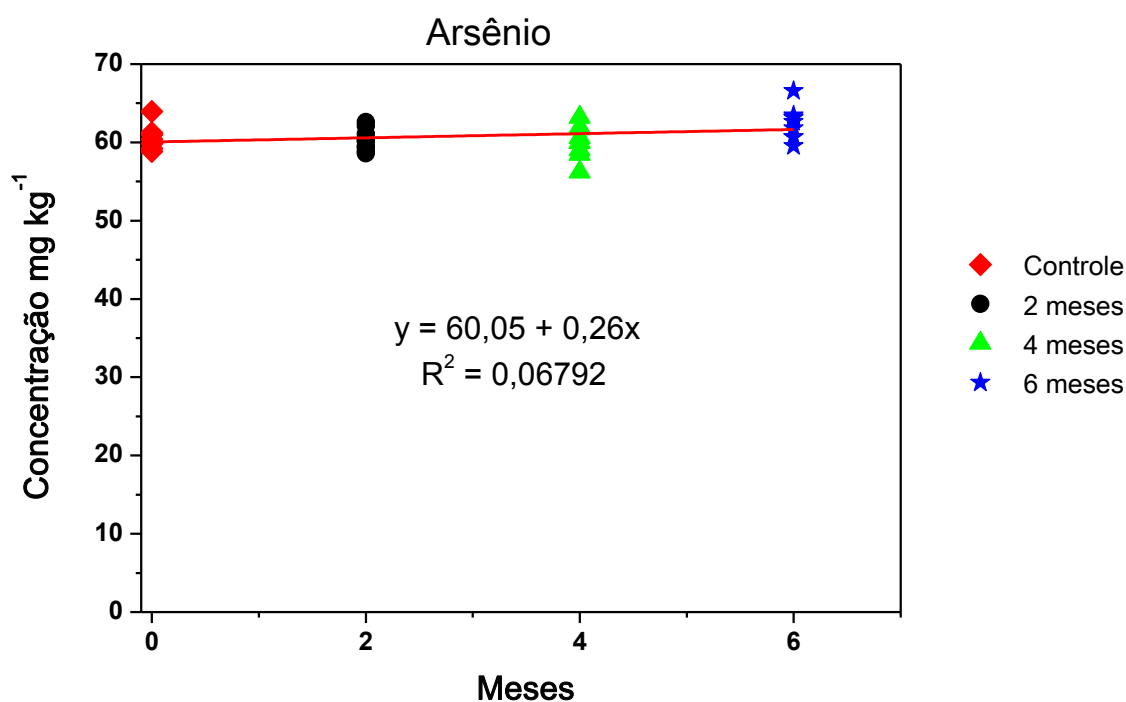


Figura 5.6.2-1 - Estabilidade a longo prazo para arsênio.

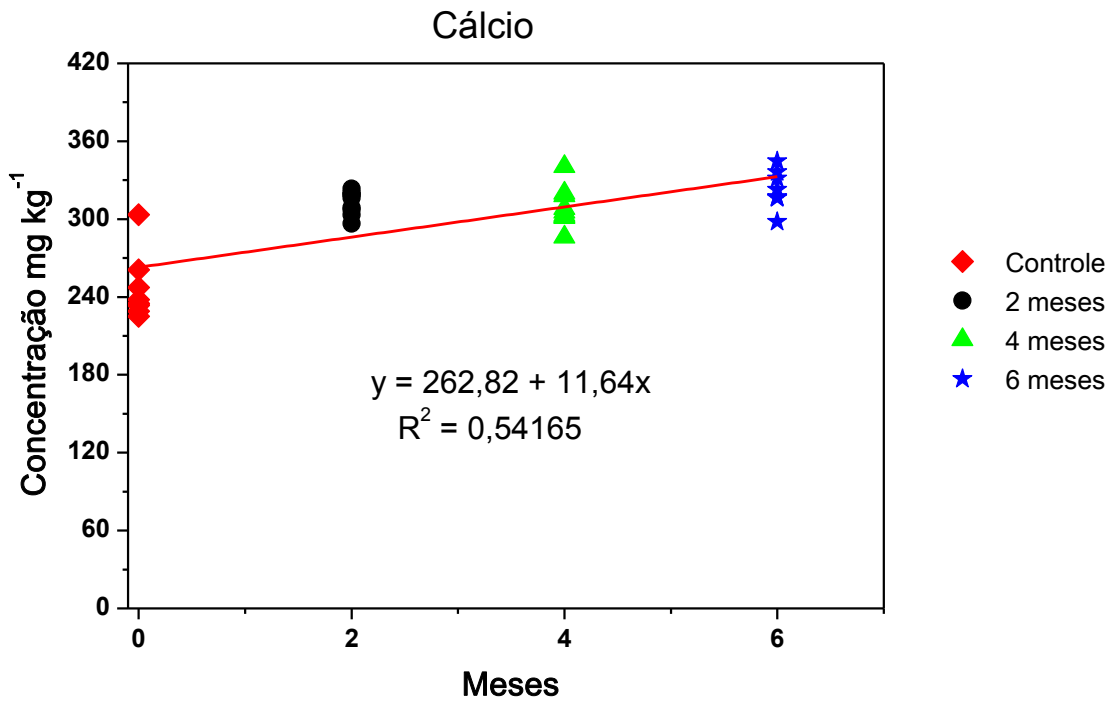


Figura 5.6.2-2 - Estabilidade a longo prazo para cálcio.

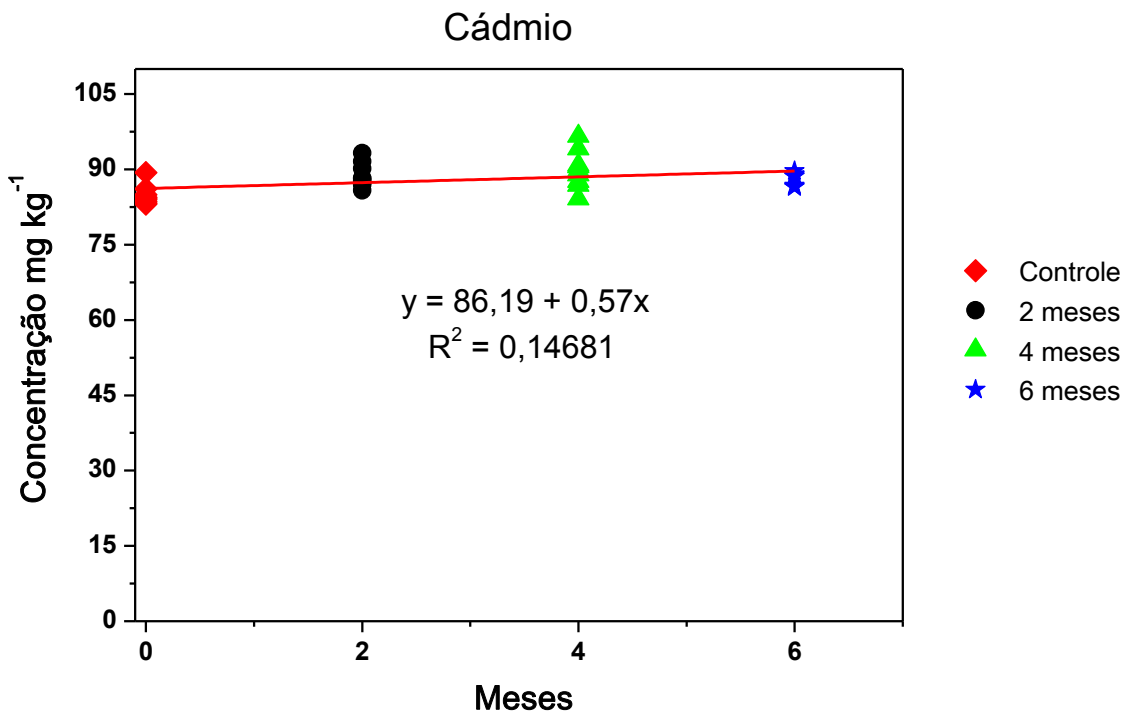


Figura 5.6.2-3 - Estabilidade a longo prazo para cádmio.

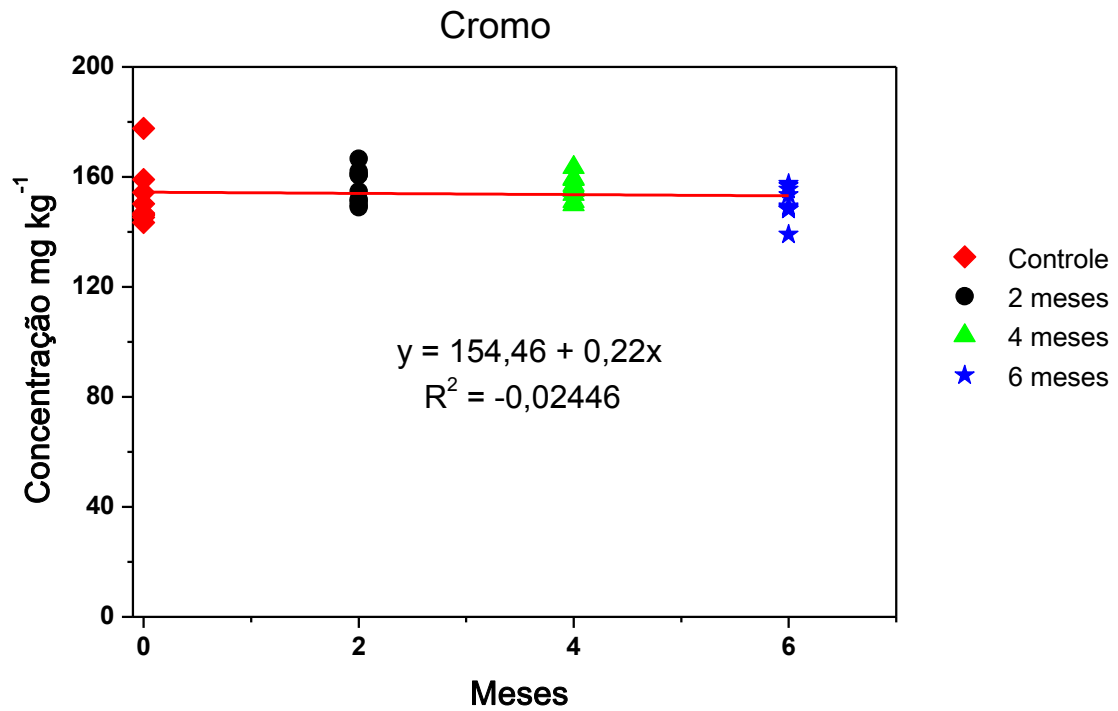


Figura 5.6.2-4 - Estabilidade a longo prazo para cromo.

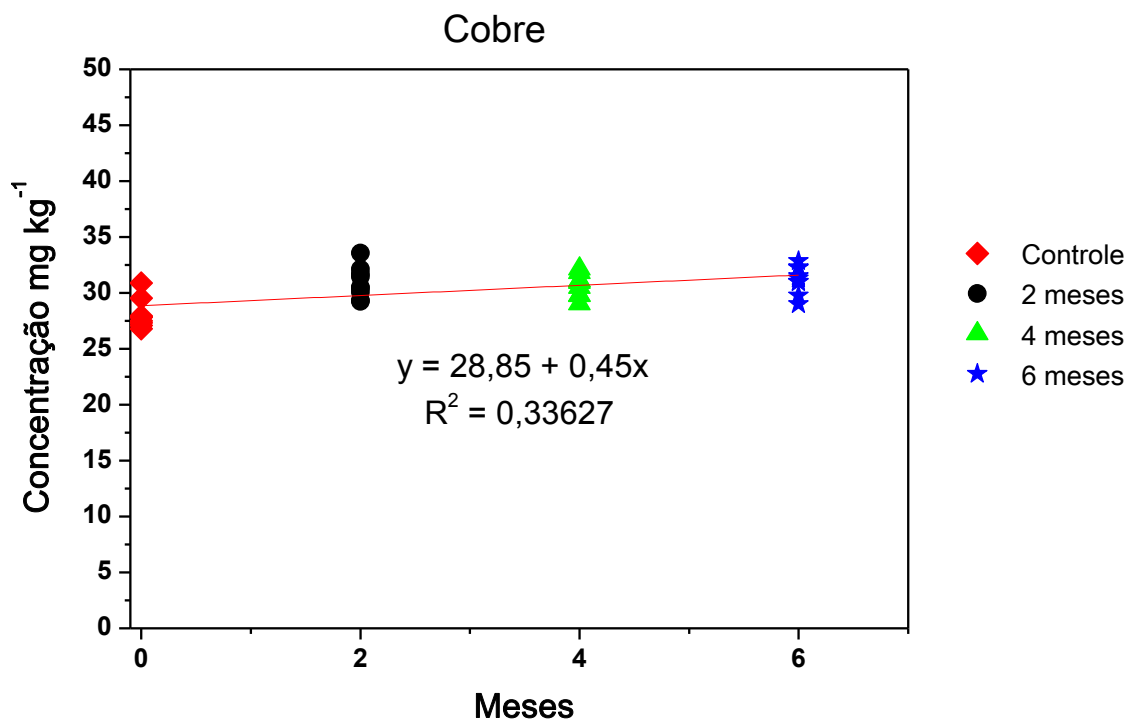


Figura 5.6.2-5 - Estabilidade a longo prazo para cobre.

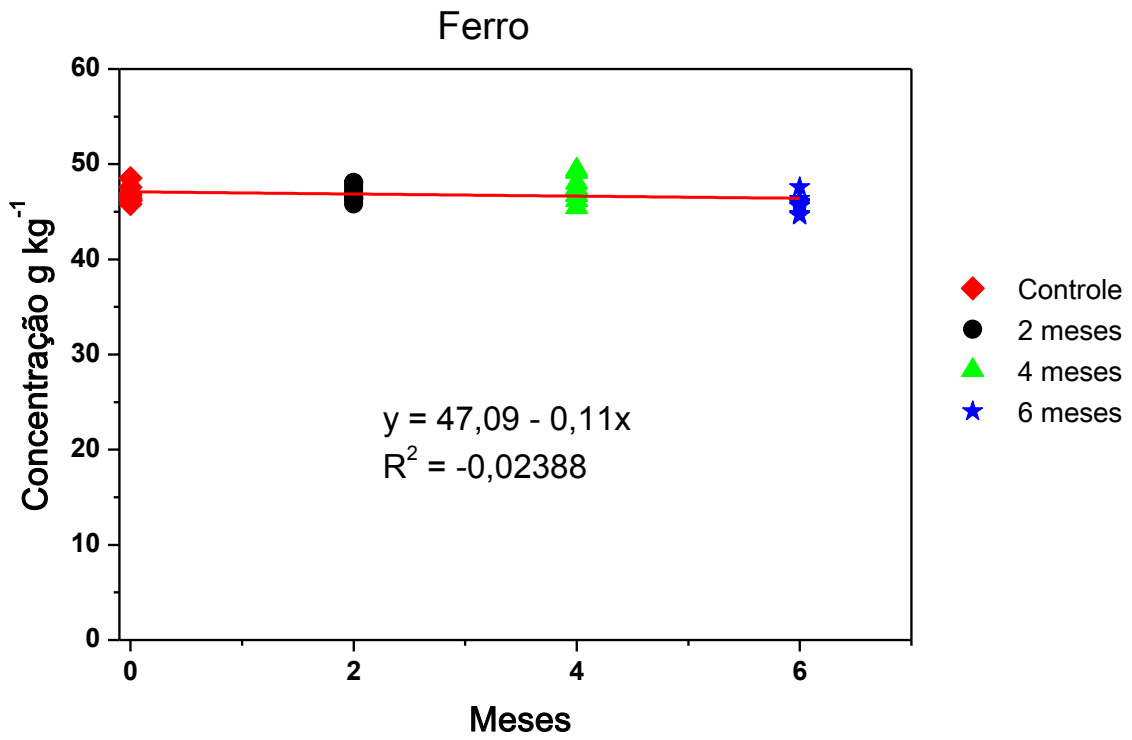


Figura 5.6.2-6 - Estabilidade a longo prazo para ferro.

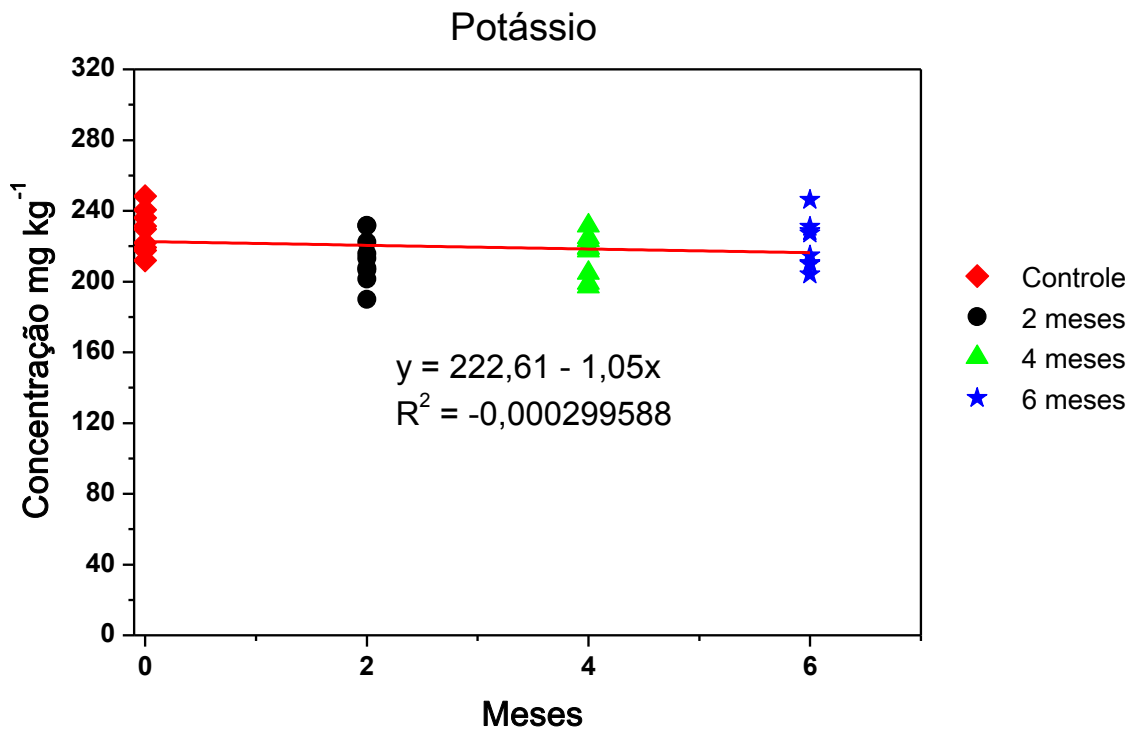


Figura 5.6.2-7 - Estabilidade a longo prazo para potássio.

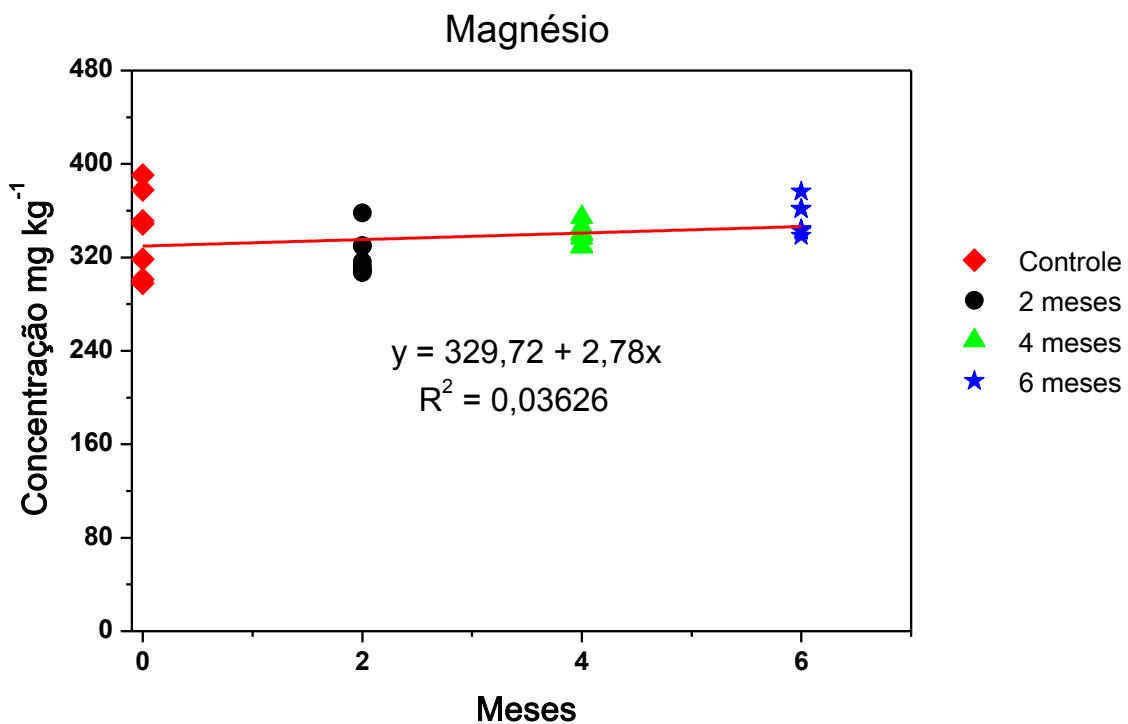


Figura 5.6.2-8 - Estabilidade a longo prazo para magnésio.

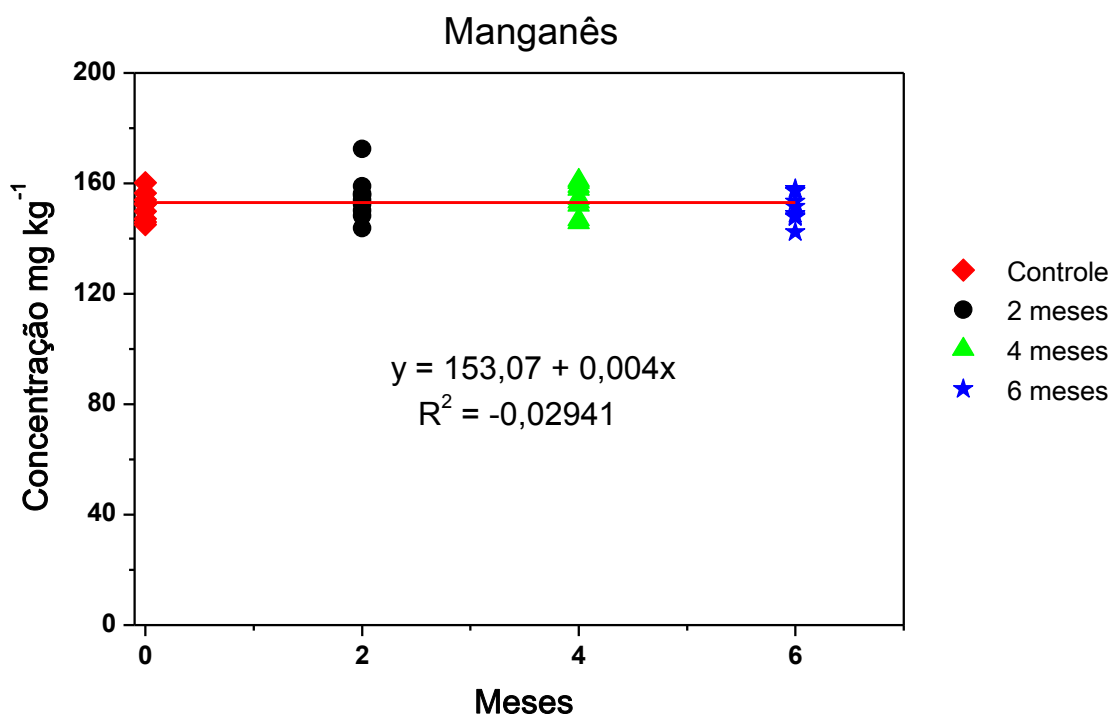


Figura 5.6.2-9 -Estabilidade a longo prazo para manganês.

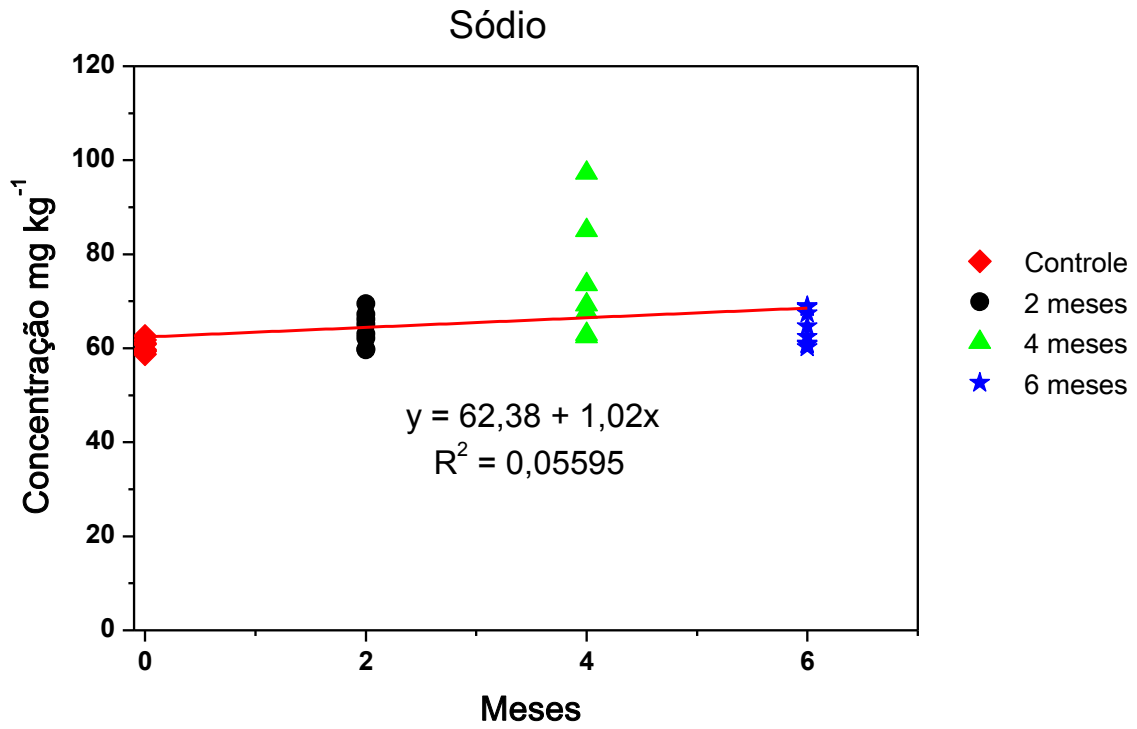


Figura 5.6.2-10 - Estabilidade a longo prazo para sódio.

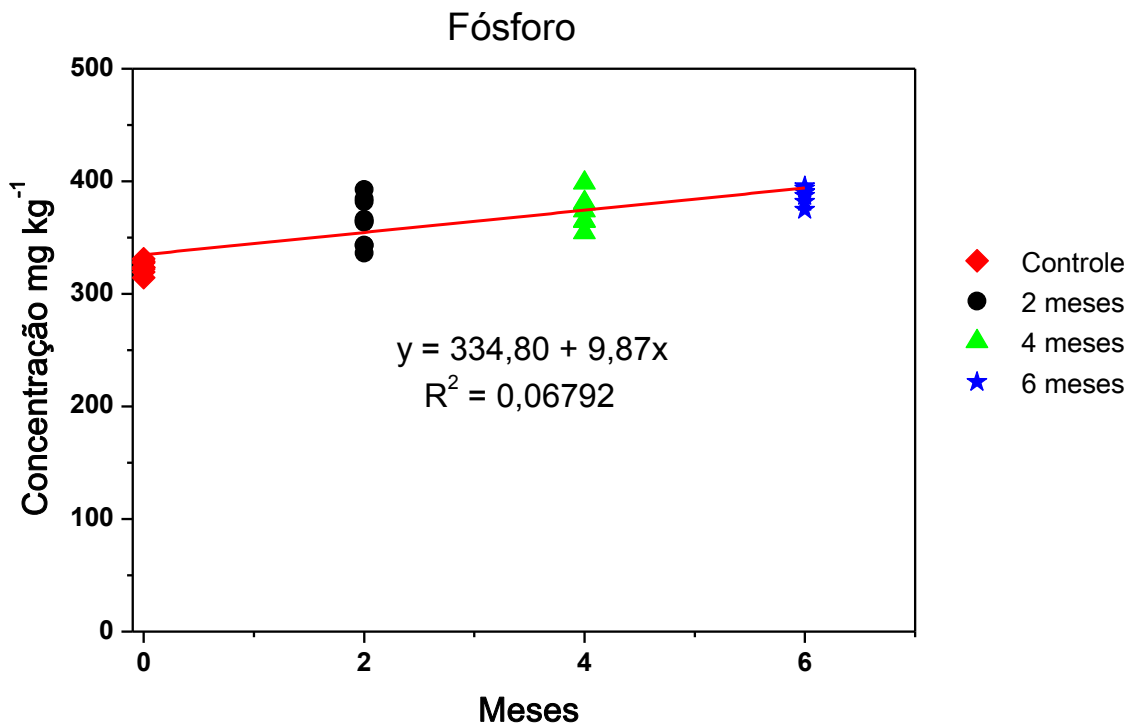


Figura 5.6.2-11 - Estabilidade a longo prazo para fósforo.

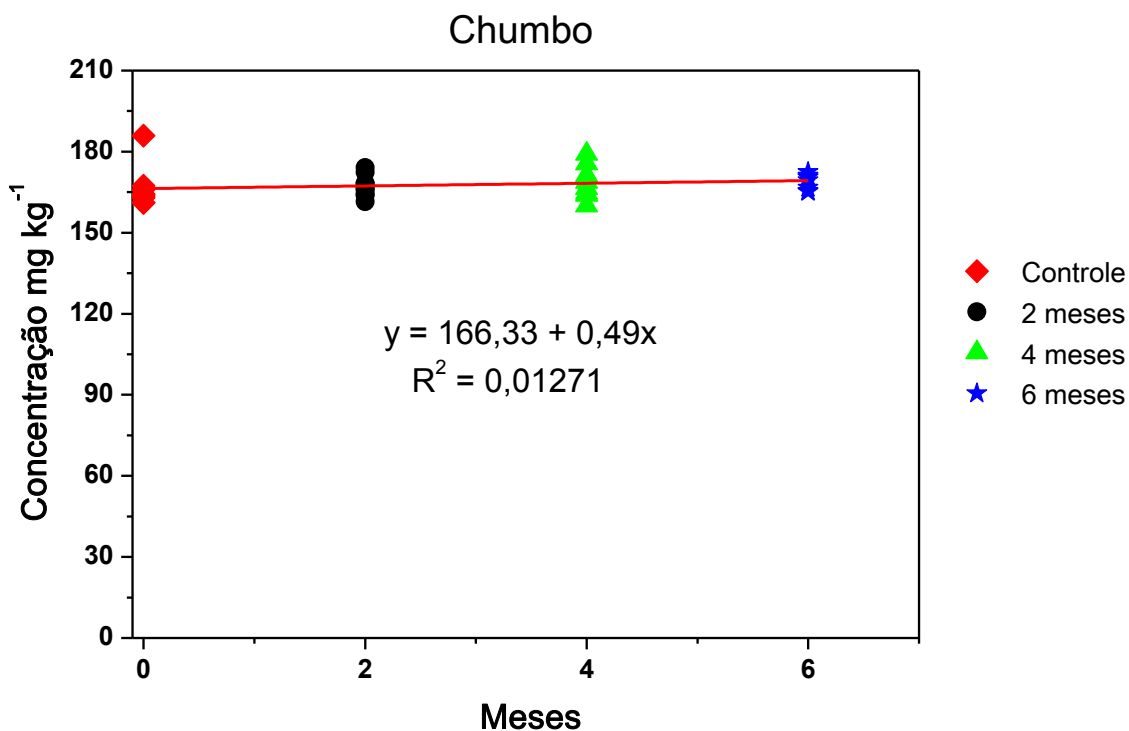


Figura 5.6.2-12 - Estabilidade a longo prazo para chumbo.

Os resultados do teste da ANOVA, apresentados na Tabela 5.6.2-1, mostraram que para todos os elementos estudados, $F_{\text{crítico}}$ foi maior que $F_{\text{calculado}}$, e o valor de p , maior que 0,05.

Dessa forma, o teste mostrou que, no nível de confiança 95%, não houve diferenças estatísticas significativas entre as concentrações para As, Cd, Cr, Pb, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e P ao decorrer dos meses de estudo.

Tabela 5.6.2-1 - Dados da ANOVA fator único para o estudo de estabilidade a longo prazo da amostra de solo candidata a MR.

Elemento	Fonte de variação	SQ	g.l.	MQ	F calculado	Valor-p	F ^a crítico
As	Entre Frascos	41,45	8	5,18	1,52	0,20	2,31
	Dentre Frascos	92,23	27	3,41			
	Total	133,69	35				
Ca	Entre Frascos	4540,23	8	567,53	0,40	0,91	2,32
	Dentre Frascos	37155,42	26	1429,05			
	Total	41695,66	34				

Cd	Entre Frascos	54,84	8	6,85	0,64	0,73	2,32
	Dentre Frascos	277,21	26	10,66			
	Total	332,05	34				
Cr	Entre Frascos	527,72	8	65,96	1,32	0,28	2,31
	Dentre Frascos	1350,75	27	50,02			
	Total	1878,47	35				
Cu	Entre Frascos	19,09	8	2,38	0,74	0,66	2,31
	Dentre Frascos	87,00	27	3,22			
	Total	106,10	35				
Fe	Entre Frascos	10,51 E+06	8	13,14 E+05	1,06	0,42	2,31
	Dentre Frascos	33,60 E+06	27	12,45 E+05			
	Total	44,11 E+06	35				
K	Entre Frascos	1467,78	8	183,47	0,96	0,49	2,32
	Dentre Frascos	4991,48	26	191,98			
	Total	6459,27	34				
Mg	Entre Frascos	4868,55	8	608,56	1,15	0,38	2,45
	Dentre Frascos	10602,20	20	530,11			
	Total	15470,76	28				
Mn	Entre Frascos	276,61	8	34,57	0,92	0,51	2,31
	Dentre Frascos	1010,18	27	37,41			
	Total	1286,80	35				
Na	Entre Frascos	535,12	8	66,89	1,06	0,42	2,40
	Dentre Frascos	1386,29	22	63,01			
	Total	1921,42	30				
P	Entre Frascos	4297,24	8	537,15	0,68	0,71	2,36
	Dentre Frascos	19085,56	24	795,23			
	Total	23382,80	32				
Pb	Entre Frascos	315,66	8	39,45	1,53	0,19	2,32
	Dentre Frascos	670,32	26	25,78			
	Total	985,99	34				

SQ: Soma Quadrática; g.l.: Grau de Liberdade; MQ: Média Quadrática; ^aFcrítico para $\alpha = 0,05$

A ISO GUIDE 35[19], estabelece que o elemento é estável se a inclinação da reta for menor que o produto entre o teste t e o desvio padrão da inclinação da reta. Na Tabela 5.6.2-2, estão os valores da inclinação da reta (b_1) e o produto do desvio padrão com o teste t de Student ($t_{(0,95, n-2)} \cdot s(b_1)$), calculados por meio das Equações (5.5 a 5.8).

Se a condição $|b_1| < (t_{(0,95,n-2)} \cdot s(b_1))$ for confirmada, nenhuma instabilidade será observada. Analisando os resultados da Tabela 5.6.2-2 concluiu-se que todos os elementos estudados atenderam a condição de $|b_1| < (t_{(0,95,n-2)} \cdot s(b_1))$, portanto são estáveis no nível de confiança de 95%. O material de solo candidato a material de referência é suficientemente estável para ser armazenado à temperatura ambiente, sem alterações significativas na composição dos elementos estudados neste trabalho.

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 \bar{X} \quad (5.5)$$

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad (5.6)$$

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - b_0 - b_1 X_i)^2}{n - 2} \quad (5.7)$$

$$s(b_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}} \quad (5.8)$$

Onde:

X – refere-se aos meses de duração do teste

Y – refere-se a concentração do analito

Tabela 5.6.2-2 - Teste *t* para os resultados obtidos por ICP OES no estudo de estabilidade a longo prazo.

Elementos	$ b_1 $	$t_{0,95,n-2} \cdot s(b_1)$
As	0,27	0,96
Ca	11,48	22,64
Cd	0,55	1,99
Cr	0,22	3,23
Cu	0,46	0,98
Fe	112,63	741,22
K	0,96	7,57
Mg	2,69	12,84
Mn	0,004	2,04
Na	1,08	6,05
P	10,16	10,35
Pb	0,48	0,51

5.7 Ensaio colaborativo

A amostra candidata a material de referência de solo foi distribuída a cada um dos laboratórios participantes, os quais deveriam determinar os elementos que fossem de sua capacidade de acordo com os métodos utilizados na rotina de seus próprios laboratórios, com seis repetições. Dos 21 laboratórios que receberam a amostra, nove enviaram os resultados, com os seguintes métodos de preparo e quantificação dos elementos:

- Laboratório 1 – Método 3051; ICP OES
- Laboratório 2 – Método 3051; FAAS (Ca; Mg; K; Fe; Mn; Zn; Na; Cu); GFAAS (As, Cd, Pb); Espectrofotométrico (P)
- Laboratório 3 – Método 3051; ICP OES
- Laboratório 4 – Água régia; ICP OES
- Laboratório 5 – Método 3051; ICP OES
- Laboratório 6 – Método 3051; ICP OES
- Laboratório 7 – Método 3051; ICP OES

- Laboratório 8 – INAA
- Laboratório 9 – INAA

Analisando os dados reportados pelos laboratórios, nota-se que, embora cada laboratório tenha feito as quantificações de acordo com os procedimentos utilizados em sua rotina, há uma convergência entre os resultados. O importante é observar que a maioria dos laboratórios realizou a extração de acordo com o descrito na norma USEPA 3051. Assim, apenas os dois laboratórios que apresentaram os resultados por análise por ativação neutrônica, foram avaliados separadamente, por representar os teores totais.

Nas Tabela 5.7-1 e Tabela 5.7-2 são reportados os dados obtidos das seis repetições de cada laboratório participante.

Tabela 5.7-1 - Resultados obtidos pelos participantes do ensaio colaborativo para caracterização do material candidato a material de referência de solo para valores extraíveis dos elementos*.

Lab	As	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Pb	Zn
1	61,13	229,88	91,69	174,16	11,55	49398,58	218,47	348,77	159,58	62,10	248,37	175,83	14,76
1	59,83	235,82	91,19	172,56	11,45	49408,97	204,45	349,08	154,71	58,89	244,27	169,77	13,80
1	61,60	241,39	93,97	175,15	12,04	50622,00	211,87	347,63	158,84	61,20	254,25	168,04	13,72
1	62,62	237,07	94,90	174,69	11,91	50607,62	223,08	353,91	159,32	57,74	257,32	187,90	15,08
1	61,55	219,35	93,90	176,73	11,96	51009,72	220,54	333,63	161,31	59,08	255,09	181,76	13,08
1	59,86	223,68	88,35	168,07	11,37	49021,60	212,95	339,26	150,57	54,64	245,54	171,19	13,19
2	56,81		100,90			32248,00	321,00	241,00		102,00	8410,00	200,80	78,88
2	58,37		102,56			31998,00	335,00	235,00		111,00	8550,00	215,23	79,25
2	55,23		99,85			32193,00	343,00	250,00		125,00	8630,00	198,56	77,36
2	58,85		98,23			32925,00	328,00	242,00		109,00	8380,00	205,23	78,12
2	60,85		100,58			32589,00	335,00	245,00		105,00	8350,00	210,58	80,03
2	52,93		101,84			32617,00	322,00	239,00		113,00	8420,00	202,03	77,25
3		888,90	106,15	38,88	12,38	37755,54	145,95	384,27	154,65				44,22
3		652,80	106,14	161,26	10,92	37371,91	110,25	322,88	146,18				36,05
3		675,87	108,49	105,34	11,44	37756,21	136,44	340,16	147,55				26,76
3		915,83	107,56	143,86	13,68	37462,11	131,62	335,64	147,61				55,19
3		634,97	107,38	96,55	10,20	36984,26	115,28	339,18	146,58				38,75
3		698,82	113,23	164,17	10,64	37473,85	127,99	345,25	145,62				36,50
4	69,01	471,80	102,30	121,00	9,21	53040,00	251,40	602,50	164,80	74,80	249,60	168,30	18,59
4	69,96	339,10	102,30	113,20	8,83	50700,00	215,10	464,00	148,60	88,90	240,40	169,20	11,22
4	73,99	570,70	103,70	112,10	9,05	52780,00	237,60	523,50	157,50	79,60	243,60	171,00	22,04
4	66,88	534,60	103,20	118,80	9,01	53390,00	232,30	569,80	161,30	69,40	241,70	165,20	16,94
4	67,12	372,80	100,70	110,50	9,09	51400,00	248,00	556,20	152,10	81,40	238,80	165,70	12,05
4	66,86	303,00	99,50	114,10	8,80	50140,00	226,50	499,50	154,80	205,60	233,10	168,60	11,69
5	49,50	253,00	72,80	105,00	3,70	33110,00		322,00	106,00		186,00	136,00	13,10
5	48,90	257,00	72,90	110,00	3,87	34070,00		396,00	111,00		183,00	140,00	14,50
5	48,70	268,00	73,40	106,00	3,67	33830,00		349,00	111,00		190,00	141,00	13,00
5	48,00	235,00	70,80	102,00	3,58	32550,00		319,00	109,00		189,00	137,00	13,00
5	48,50	243,00	73,10	114,00	4,37	34180,00		468,00	120,00		190,00	139,00	15,20
5	50,00	293,00	74,20	110,00	4,02	34300,00		390,00	114,00		196,00	141,00	14,30
6	62,42	325,00	101,98	123,30	7,87	4113,00	314,00	333,00	114,20	104,00	169,00	184,05	13,03
6	60,46	363,00	98,00	125,00	8,27	3903,00	285,00	344,00	124,25	80,00	160,00	183,60	16,92
6	59	320,00	99,03	122,35	9,15	4143,00	279,00	338,00	118,50	84,00	160,00	180,15	14,789
6	56,45	274,00	96,03	125,10	5,71	3836,00	287,00	355,00	112,90	80,00	159,00	173,60	12,22
6	63,47	236,00	97,44	128,95	8,58	3950,00	289,00	384,00	125,45	70,00	172,00	184,20	13,93
6	60,32	260,00	100,73	130,90	6,15	4033,00	300,00	400,00	123,10	80,00	170,00	179,90	13,43
7	26	252,6	84,1	85,2	<0,6	26310	47,9	118	47,1	42,2	93,8	153,8	<3,3
7	27	236,2	83,6	83	<0,6	23100	47,9	104	44,5	42,2	81,2	151,9	<3,3
7	19,1	228,5	83,8	67,3	<0,6	11640	<20	61,7	31,9	<20	38,4	150,6	<3,3
7	20,9	242,2	84,2	74,2	<0,6	16120	24,2	82,4	37,3	42,2	55,9	155,3	<3,3
7	26,3	241,4	81,4	84,4	<0,6	26100	<20	112,3	46	42,2	91,4	150,3	<3,3
7	23,4	226,7	82,2	83,8	<0,6	23990	24,2	95,6	44,9	42,2	90,3	150	<3,3

*Grandezas dos elementos em mg kg⁻¹

Tabela 5.7-2 - Resultados obtidos pelos participantes do ensaio colaborativo para caracterização do material candidato a material de referência de solo para valores totais dos elementos através da análise por ativação neutrônica instrumental (INAA)*.

Lab	As	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Pb	Zn
8	80,83		114,58	174,00		52062,50							
8	76,80		108,25	162,00		51634,02							
8	82,90		105,00	142,00		51870,00							
8	81,96		108,82	174,00		51779,41							
8	80,38		108,65	163,00		51793,27							
8	78,90		105,00	133,00		52080,00							
9	85,00	42036,00	122,00	165,45		62648,00	397,00		224,00	122,00			43,00
9	81,00	34147,00	106,00	187,13		54716,00	331,00		194,00	106,00			40,00
9	74,00	33653,00	99,00	182,18		50466,00	260,00		190,00	123,00			37,00
9	79,00	35618,00	115,00	170,37		57538,00	386,00		233,00	109,00			25,00
9	79,00	35991,00	109,00	187,41		55116,00	231,00		249,00	104,00			36,00
9	71,00	32383,00	69,00	162,99		49100,00	393,00		221,00	102,00			43,00

*Grandezas dos elementos em mg kg⁻¹

Para detecção de *outliers* foi realizado o teste de Grubbs, como descrito no item 5.5, por meio da Equação (5.4), e a estatística baseada no índice z [79]. O cálculo do índice z pode ser realizado por meio da Equação (5.9)[79]:

$$Z = \frac{(\chi_i - \bar{X})}{\sigma_p} \quad (5.9)$$

O termo $(\chi_i - \bar{X})$ reflete o erro cometido na quantificação reportada do laboratório participante com relação ao valor designado, onde: χ_i é o resultado indicado pelo laboratório; \bar{X} o valor alvo ou a melhor estimativa do valor verdadeiro e o σ_p é o desvio padrão alvo.

O teste de Grubbs foi realizado entre as réplicas reportadas para cada elemento dentro de cada laboratório. Os resultados mostraram que não há *outliers* entre as réplicas dentro de cada laboratório, ou seja, existe uma boa repetibilidade intralaboratorial. A seguir os testes de Grubbs e índice z foram aplicados para detectar *outliers* entre as médias de cada elemento entre os laboratórios.

Em relação aos valores do índice z , quanto mais próximo o valor de z de zero, melhor será o resultado reportado pelo laboratório. Se z for igual a ± 2 , o resultado do laboratório é considerado aceitável e se z for maior que ± 3 , os resultados são considerados insatisfatórios ou inaceitáveis.

Na Figura 5.7-1, estão apresentados os resultados dos laboratórios reportados pelo índice z . Por meio dessa ferramenta foi possível visualizar que há problemas de reprodutibilidade (variação interlaboratorial) para alguns elementos e há laboratórios que apresentaram resultados extremos e, portanto, passíveis de serem eliminados.

Desta forma, a concentração de P para os laboratórios 2 e 7, Ca para os laboratórios 3 e 4, Mg para os laboratórios 7 e 4, Mn, Na, As e K para o laboratório 7, obtiveram um índice z maior ou igual que 2 e, com um intervalo de confiança de 95%, foram considerados *outliers*. Tanto o teste de Grubbs quanto o índice z confirmaram os *outliers*, portanto esses valores de concentração foram excluídos para a obtenção do valor de consenso e o cálculo da incerteza associada à caracterização do material de solo candidato a material de referência.

É importante enfatizar que, para este estudo, o ensaio colaborativo teve a intenção de obter os valores de consenso designado ao material candidato, como descrito na ISO GUIDE 35, portanto sem nenhuma intenção de avaliar o desempenho dos laboratórios participantes.

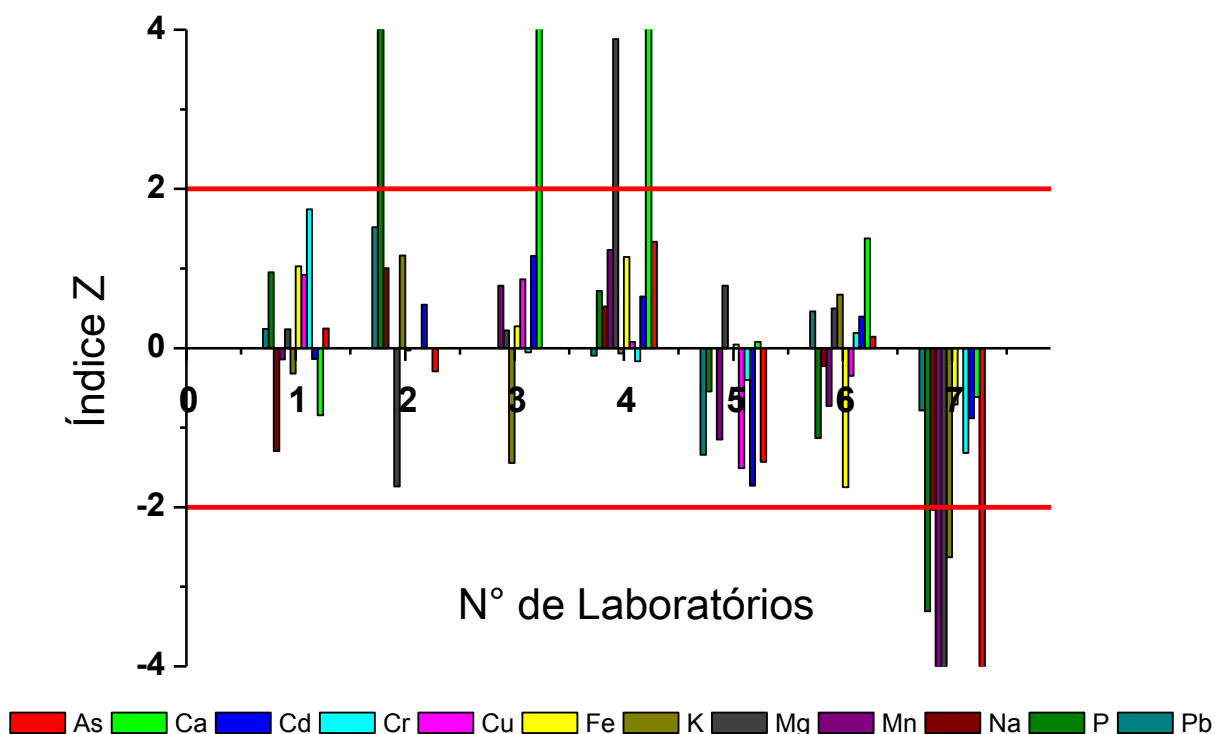


Figura 5.7-1 - Índice z dos valores de concentração dos elementos reportados no ensaio colaborativo para o material de solo candidato a material de referência.

5.8 Determinação da incerteza

A incerteza expandida associada ao valor de concentração (U_{MRC}) final do material de referência foi realizada conforme indicada na norma ISO GUIDE 35[19]. Foi calculada pela Equação (3.1), descrita no item 3.2.3, onde k é o fator de abrangência (neste trabalho considerado $k=2$, com intervalo de confiança de 95%), através das contribuições referentes às incertezas padrão da caracterização (u_{char}), da homogeneidade (u_{bb}), da estabilidade a curto prazo (u_{sts}) e da estabilidade a longo prazo (u_{lts}).

$$U_{MRC} = k \sqrt{u_{char}^2 + u_{bb}^2 + u_{sts}^2 + u_{lts}^2} \quad (3.1)$$

O valor de consenso para cada analito foi obtido através da média dos valores reportados pelos laboratórios participantes do ensaio colaborativo.

A parcela da incerteza padrão inerente à não homogeneidade (u_{bb}) do material que compõe o lote de solo preparado foi obtida a partir dos mesmos dados gerados pela ANOVA com fator único, conforme a ISO GUIDE 35[19,40].

O cálculo da incerteza padrão da homogeneidade é em função dos valores da média quadrática (MQ), considerando que as médias quadráticas entre grupos (MQ_{entre}) e dentre grupos (MQ_{dentro}) representam as variâncias extrínseca e intrínseca entre frascos. Esses valores são fornecidos pela ANOVA e estão apresentados na Tabela 5.5-1.

O S_{bb} pode ser tomado como estimativa para a incerteza padrão devido à homogeneidade entre frascos, u_{bb} , utilizada como componente de incerteza padrão combinada para certificação. Desse modo, quando o valor de MQ entre os grupos (MQ_{entre}) for maior que dentre os mesmos (MQ_{dentro}), a incerteza padrão devido à não homogeneidade (u_{bb}) é equivalente ao desvio padrão (S_{bb}), podendo ser calculada por meio da Equação (5.10), com n = número de replicatas efetuadas em cada frasco. Neste caso o número de réplicas é igual a 3 ($n=3$).

$$u_{bb} = S_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{entre} - MQ_{dentro}}{n}} \quad (5.10)$$

Se o valor de MQ entre os grupos (MQ_{entre}) for menor que dentre dos mesmos (MQ_{dentro}), a heterogeneidade pode estar escondida pela repetitividade do método e é recomendado considerar a contribuição da variância dentre grupos. Portanto, a incerteza padrão devido à não homogeneidade do lote preparado será representada pela Equação (5.11) que está sob influência da variância de repetitividade.

$$u_{\text{homogeneidade}} = \sqrt{\frac{MQ_{dentro}}{n}} \sqrt[4]{\frac{2}{v_{MQ_{dentro}}}} \quad (5.11)$$

Onde $v_{MQ_{dentro}}$ é igual ao grau de liberdade dentre grupos.

Os analitos Cd, Pb, Cu, P, Zn, Na, Fe, Mn, apresentaram $MQ_{entre} > MQ_{dentro}$, portanto a incerteza da homogeneidade foi calculada usando a Equação (5.10). Para os analitos As, Ca, Mg, K, Cr $MQ_{entre} < MQ_{dentro}$, sendo as incertezas da homogeneidade para esses analitos calculadas com o emprego da Equação (5.11).

A estimativa das incertezas relacionadas à estabilidade a curto prazo não é considerada no cálculo da U_{CRM} , pois parte-se do princípio que só existe confiabilidade no uso de um MR ou MRC para o qual as condições de transporte são adequadas e não causam alterações no material durante o processo[19].

Desta forma, foram consideradas somente as incertezas padrão relacionadas à estabilidade a longo prazo. A estimativa da incerteza associada a estabilidade a longo prazo (u_{lts}) é calculada em relação ao desvio padrão da inclinação da reta (s_{bl}), de acordo com a Equação (5.8) descrita no item 5.6.2, sendo considerado o tempo total (em meses) que o estudo foi realizado (t). A estimativa da incerteza associada à estabilidade a longo prazo (u_{lts}) é calculada por meio da Equação (5.12).

$$u_{lts} = S_{bl} \cdot t \quad (5.12)$$

Onde:

S_{bl} - é o desvio padrão da inclinação da reta, calculado pela Equação 5.8

t - tempo total (em meses) que o estudo foi realizado

A estimativa da incerteza associada à caracterização (u_{char}) é calculada a partir dos parâmetros obtidos pela ANOVA de acordo com as recomendações da ISO GUIDE 35[19], conforme as Equações (5.13 a 5.15). Os dados gerados pela ANOVA fator único são apresentados na Tabela 5.8-1.

$$u = u_{char} = \sqrt{\frac{S_L^2}{p} + \frac{S_r^2}{n.p}} \quad (5.13)$$

$$S_r^2 = MQ_{dentre} \quad (5.14)$$

$$S_L^2 = \frac{MQ_{entre} - MQ_{dentre}}{n_0} \quad (5.15)$$

Onde:

MQ_{entre} e MQ_{dentre} – média quadrática entre e dentre os grupos, dados obtidos pela ANOVA

n_0 e n – significa o número de determinações, sendo que neste trabalho foram 6 repetições realizadas pelos laboratórios no ensaio colaborativo

p – número de laboratórios participantes

Tabela 5.8-1 - Dados da ANOVA fator único para o ensaio colaborativo do MR de solo.

Elemento	Fonte de variação	SQ	g.l.	MQ
As	Entre Lab.	1259,02	4	314,8
	Dentre Lab.	117,66	25	4,7
	Total	1376,68	29	
Ca	Entre Lab.	15438,03	3	5146,01
	Dentre Lab.	14212,11	20	710,61
	Total	29650,14	23	

	Entre Lab.	5384,13	6	897,35
Cd	Dentre Lab.	125,18	35	3,58
	Total	5509,31	41	
	Entre Lab.	28249,56	5	5649,91
Cr	Dentre Lab.	12092,24	30	403,07
	Total	40341,8	35	
	Entre Lab.	250,34	4	62,58
Cu	Dentre Lab.	18,80	25	0,75
	Total	269,13	29	
	Entre Lab.	9,89E+09	6	1,65E+09
Fe	Dentre Lab.	1,95E+08	35	5,56E+06
	Total	1,01E+10	41	
	Entre Lab.	144945,20	4	36236,30
K	Dentre Lab.	3201,20	25	128,05
	Total	148146,40	29	
	Entre Lab.	65549,40	4	16387,35
Mg	Dentre Lab.	22180,14	25	887,21
	Total	87729,53	29	
	Entre Lab.	8447,94	4	2111,99
Mn	Dentre Lab.	574,55	25	22,98
	Total	9022,49	29	
	Entre Lab.	5937,21	3	1979,07
Na	Dentre Lab.	415,42	16	25,96
	Total	6352,63	19	
	Entre Lab.	30573,33	3	10191,11
P	Dentre Lab.	569,49	20	28,47
	Total	31142,83	23	
	Entre Lab.	16170,96	5	3234,19
Pb	Dentre Lab.	654,44	30	21,81
	Total	16825,40	35	

Lab.: Laboratório; SQ: Soma Quadrática; g.l.: Grau de Liberdade; MQ: Média Quadrática.

5.9 Atribuição dos valores de propriedades e incertezas obtidas

A incerteza implica em uma maior confiança na validade do resultado de medição. Um valor com sua incerteza permite avaliar a precisão ou exatidão de um método analítico.

Na Tabela 5.9-1 estão indicados os valores das incertezas padrão associadas à caracterização (u_{char}), à homogeneidade (u_{bb}), à estabilidade a longo prazo (u_{lts}) e à incerteza expandida final do material candidato a material de referência de solo (U_{MR}).

Tabela 5.9-1 - Estimativas das incertezas padrão da caracterização (u_{char}), homogeneidade (u_{bb}), estabilidade a longo prazo (u_{lts}) e a incerteza expandida (U_{MR}) para cada elemento no material candidato a material de referência de solo.

Elementos (Unidade)	u_{char}	u_{bb}	u_{lts}	U_{MR}
As (mg kg ⁻¹)	3,239	0,7837	1,3342	7,18
Ca (g kg ⁻¹)	0,0146	0,00752	0,0316	0,07
Cd (mg kg ⁻¹)	4,6223	1,91	2,7751	11,44
Cr (g kg ⁻¹)	0,0125	0,0023	0,0045	0,027
Cu (mg kg ⁻¹)	1,4443	0,2223	1,3691	4,01
Fe (g kg ⁻¹)	6,2638	0,5859	1,0336	12,75
K (g kg ⁻¹)	0,0348	0,0035	0,0106	0,073
Mg (g kg ⁻¹)	0,0234	0,0087	0,0179	0,061
Mn (g kg ⁻¹)	0,0084	0,0040	0,0029	0,019
Na (g kg ⁻¹)	0,0099	0,0012	0,0084	0,026
P (g kg ⁻¹)	0,0206	0,0042	0,0144	0,051
Pb (mg kg ⁻¹)	9,4783	3,234	0,7054	20,08

As informações na Tabela 5.9-1 demonstram que, para a maioria dos elementos em estudo, houve maior contribuição para a incerteza da caracterização. Na Figura 5.9-1 é apresentada a contribuição de cada incerteza associada à incerteza expandida final do material de referência. É possível

visualizar a influência da incerteza referente à caracterização, que foi a que mais contribuiu para a incerteza expandida final do material para As, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Na e Pb. Para Ca a incerteza associada à estabilidade a longo prazo foi a que mais contribuiu para a incerteza expandida do material de referência de solo.

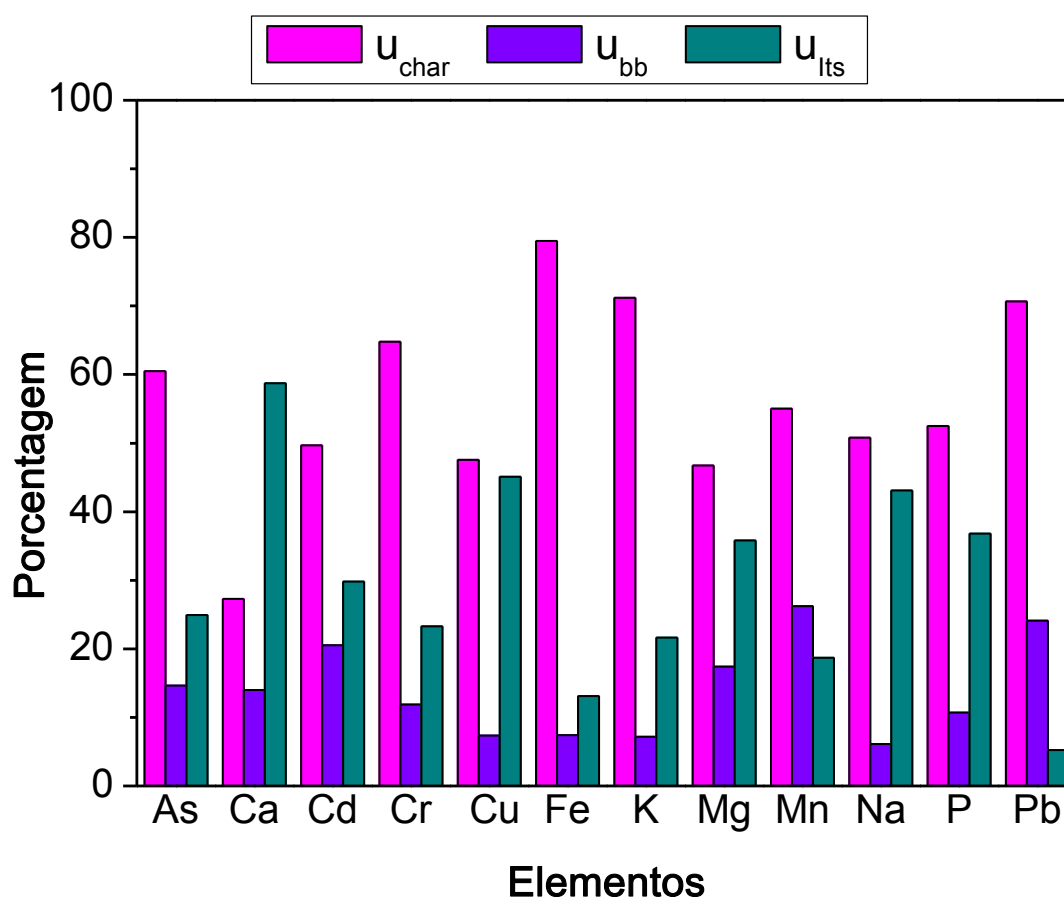


Figura 5.9-1 - Contribuição das incertezas associadas da caracterização, homogeneidade e estabilidade a longo prazo à incerteza expandida final do material de referência de solo.

O valor de consenso para cada analito foi obtido pela média das concentrações reportadas pelos laboratórios participantes do ensaio colaborativo. Para cada analito foi obtida a incerteza expandida final e a porcentagem utilizando-se a Equação (3.1). A Tabela 5.9-2 mostra os valores referência para os teores extraíveis determinados por ICP OES e a incerteza expandida em porcentagem (U_{MR}). As incertezas expandidas mais elevadas foram obtidas para os elementos Ca, Cu, Fe, K e Na.

A Tabela 5.9-3 mostra os valores informativos para os teores totais atribuídos aos elementos determinados no material de referência de solo por INAA.

Tabela 5.9-2 - Valores de referência para os teores extraíveis atribuídos aos elementos determinados no MR de solo (g kg^{-1} ou mg kg^{-1}).

Elemento (Unidade)	Valor determinado	U_{MR} (%)
As (mg kg^{-1})	59,3±7,2	12
Ca (g kg^{-1})	0,26±0,07	27
Cd (mg kg^{-1})	94,0±11,5	12
Cr (g kg^{-1})	0,12±0,03	23
Cu (mg kg^{-1})	8,8±4,0	46
Fe (g kg^{-1})	32,9±12,7	39
K (g kg^{-1})	0,24±0,07	30
Mg (g kg^{-1})	0,33±0,06	18
Mn (g kg^{-1})	0,13±0,02	15
Na (g kg^{-1})	0,08±0,03	32
P (g kg^{-1})	0,21± 0,05	24
Pb (mg kg^{-1})	170,2±20,1	12

Tabela 5.9-3 - Valores informativos para os teores totais atribuídos aos elementos determinados no MR de solo (g kg^{-1} ou mg kg^{-1}), por INAA.

Elemento (Unidade)	Intervalo Informativo	Média	Número de Laboratório
As (mg kg^{-1})	71- 85	79	2
Ca (g kg^{-1})	32 – 42	36	1
Cd (mg kg^{-1})	69 - 122	106	2
Cr (mg kg^{-1})	133 – 187	167	2
Fe (g kg^{-1})	49 – 63	53	2
K (mg kg^{-1})	231 - 397	333	1
Mn (mg kg^{-1})	190 - 249	219	1
Na (mg kg^{-1})	102 – 123	111	1

Capítulo 6

Conclusões

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho, foram concluídas todas as etapas de preparo do material candidato a material de referência de solo característico de região tropical.

Os estudos de homogeneidade, estabilidade a curto prazo, estabilidade a longo prazo e caracterização, juntamente com as incertezas do material de referência de solo, obedeceram aos princípios das normas internacionais.

O zinco foi considerado estatisticamente não homogêneo, portanto não foi caracterizado. Todos os outros analitos estudados foram considerados estatisticamente homogêneos e estáveis, sendo possível a caracterização da concentração dos 12 elementos estudados.

A participação dos laboratórios no ensaio colaborativo foi fundamental para a obtenção dos valores designados para cada analito em estudo.

Pode-se concluir que, apesar da digestão das matrizes ser considerada incompleta (não foi usado HF para a digestão dos silicatos), os procedimentos foram adequados e possibilitaram a determinação dos analitos com suas respectivas incertezas.

Ao se compararem os teores extraíveis de As, Cd, Cr e Pb no solo com os limites críticos estabelecidos pela CETESB (2014)[70] (Cd = 3,6, Cr = 150, Pb = 150, As = 35 mg kg⁻¹), verifica-se que apenas o teor de Cr está dentro dos valores permitidos para áreas agrícolas. Os demais analitos avaliados estão acima dos teores de referência para qualidade do solo estabelecidos pela CETESB (Cd = <0,5, Cr = 40, Pb = 17, As = 3,5 mg kg⁻¹). Deve ser salientado que o solo foi artificialmente contaminado.

Por fim, esse trabalho possibilitou o desenvolvimento de um material de referência de solo nacional para As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Pb e poderá ser utilizado para ao controle de resultados analíticos.

Capítulo 7

Referências Bibliográficas

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Comércio exterior da agropecuária brasileira- principais produtos e mercados. p. 23, 2012.
- 2 MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em Maio de 2014.
- 3 VIM. Termos, Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos Fundamentais e Gerais e Associados. p. 94, 2012.
- 4 EURACHEM/CITAC. Quantificação da incerteza nas medições analíticas. p. 34, 2001.
- 5 COMAR. Banco Internacional de Dados de Materiais de Referência Certificados. Disponível em: <http://www.comar.bam.de/en/examples/index.htm>. Acesso em Maio de 2014.
- 6 TAVERNIERS, I.; BOCKSTAELE, E. VAN; et al. Trends in quality in the analytical laboratory. I. Traceability and measurement uncertainty of analytical results. **Trends Anal. Chem.**, v. 23, n. 7, 2004.
- 7 CHELEGÃO, R. **Desenvolvimento de Procedimento para Determinação Direta de As, Cd, Pb e Cu por SS-GF AAS e Avaliação de Parâmetros na Produção de Material de Referência de Tecido Muscular de Peixe Visando ao Controle Ecotoxicológico**. Santo André, Programa de Pós-Graduação em Ciência & Tecnologia - UFABC. Dissertação de Mestrado, 2009.80p.
- 8 RICHTER, W. Comparability and recognition of chemical measurement results – an international goal. **Fresenius J. Anal. Chem.**, n. 365, p. 569–573, 1999.
- 9 CAROLI, S. Certified reference materials: use, manufacture and certification. **Anal. Chim. Acta**, v. 283, p. 573–582, 1993.
- 10 ABNT ISO GUIA 30. Termos e definições relacionados com materiais de referência. **ABNT**, p. 7, 2000.

- 11 ABNT ISO GUIA 34. Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência. **ABNT**, p. 25, 2004.
- 12 ZSCHUNKE, A. The role of reference materials in analytical chemistry. **Accerd. Qual. Assur.**, v. 8, p. 247–251, 2003.
- 13 SUTARNO, R.; STEGER, H.F. The use of certified reference materials in the verification of analytical data and methods. **Talanta**, v. 32, n. 6, p. 439–445, 1985.
- 14 ZELENY, R.; SCHIMMEL, H. Influence of the approach to calibration on the accuracy and the traceability of certified values in certified reference materials. **Trends Anal. Chem.**, v. 33, p. 1–10, 2012.
- 15 PAUWELS, J.; LAMBERTY, A. CRMs for the 21st century: new demands and challenges. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 370, n. 2-3, p. 111–4, 2001.
- 16 ABNT ISO GUIA 31. Materiais de referência - Conteúdo de certificados e rótulos. **ABNT**, p. 8, 2004.
- 17 ABNT ISO GUIA 32. Calibração em química analítica e uso de materiais de referência certificados. **ABNT**, p. 7, 2000.
- 18 ABNT ISO GUIA 33. Utilização de materiais de referência certificados. **ABNT**, p. 28, 2002.
- 19 ISO GUIDE 35. Reference materials - General and statistical principles for certification. **ISO**, p. 63, 2006.
- 20 LINSINGER, T.P.J.; PAUWELS, J.; et al. Homogeneity and stability of reference materials. **Accerd. Qual. Assur.**, v. 6, p. 20–25, 2001.
- 21 CARDOSO, M.H.W.M.; NÓBREGA, A.W. da; et al. Preparação de um material de referência certificado para controle de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros: estudo da homogeneidade. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 30, n. 2, p. 429–438, 2010.
- 22 SCHARF, H.; BECKER, R.; et al. Certification of the mass fractions of trace elements and pentachlorophenol in an impregnated wood reference material. **Accerd. Qual. Assur.**, v. 15, p. 613–619, 2010.
- 23 MOREIRA, E.G.; VASCONCELLOS, M.B.A.; et al. Perna perna mussel reference material: short term stability assessment. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 282, p. 957–962, 2009.

- 24 VEEN, A.M.H. V.; LINSINGER, T.P.J.; et al. Uncertainty calculations in the certification of reference materials 4 . Characterisation and certification. **Accerd. Qual. Assur.**, v. 6, p. 290–294, 2001.
- 25 RASBERRY, S.D. Standard reference materials - the first century. **NIST Special Publication 260-150**, p. 1–29, 2002.
- 26 GILLS, T.E.; WOLF, W.R.; et al. Eighth international symposium on biological and environmental reference materials (BERM-8), Bethesda, MD , september 17 – 22 , 2000. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 370, p. 109–110, 2001.
- 27 SCHMIDT, K.S.; HACKENBERG, R.; et al. Endogenous and synthetic steroids in bovine urine – preparation of in-house reference material , stability studies and results of a proficiency test. **Anal. Chim. Acta**, v. 717, p. 85–91, 2012.
- 28 CAROLI, S.; BOTTONI, P. A new Antarctic certified reference material for trace elements : Adamussium colbecki. **Microchem. J.**, v. 96, n. 2, p. 190–193, 2010.
- 29 ZISCHKA, M.; SCHRAMEL, P.; et al. A new certified reference material for the quality control of palladium , platinum and rhodium in road dust , BCR-723. **Trends Anal. Chem.**, v. 21, n. 12, p. 851–868, 2002.
- 30 CAROLI, S.; FORTE, G.; et al. A pilot study for the production of a certified reference material for trace elements in honey. **Microchem. J.**, v. 67, p. 227–233, 2000.
- 31 CAROLI, S.; SPAGNOLI, M.; et al. Trace elements in bovine muscle: an ongoing project for a new certified reference material. **Microchem. J.**, v. 67, n. 1-3, p. 235–243, 2000.
- 32 WANG, H.; MA, K.; et al. Production of three certified reference materials for water content based on mixed solutions of butanol, xylene and propylene carbonate. **Accerd. Qual. Assur.**, v. 17, p. 589–596, 2012.
- 33 CETEM. Centro de Tecnologia Mineral. Disponível em : <http://www.cetem.gov.br/pdi/programas-e-projetos/em-curso/pmrc>. Acesso em Abril de 2014.
- 34 INCQS. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Disponível em: http://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=120&Itemid=100. Acesso em Maio de 2014.

- 35 INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia Qualidade e Tecnologia. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/metcientifica/formularios/form_mrc.asp. Acesso em Junho de 2014.
- 36 CETEM. Centro de Tecnologia Mineral. Certificado de análise, cbpa-1 minério de sulfetos de cobre (sossego, pará). p. 1–5, 2007.
- 37 CETEM. Centro de Tecnologia Mineral. Certificado de análise, cbpa-2 concentrado de sulfetos de cobre (sossego, pará). p. 1–5, 2007.
- 38 CETEM. Centro de Tecnologia Mineral. Certificado de análise, bxpa-1 bauxita (jurutí, pará). p. 2–5, 2006.
- 39 COTTA, A.J.B.; ENZWEILER, J. Certificate of analysis of the reference material BRP-1 (basalt Ribeirão Preto). **Geostand. Geoanal. Res.**, v. 32, n. 2, p. 231–235, 2008.
- 40 CHUI, Q.S.H.; IAMASHITA, C.O.; et al. Estudo da homogeneidade de lote de material silício metálico candidato a material de referência. **Quim. Nova**, v. 28, n. 3, p. 497–501, 2005.
- 41 BISPO, J.M.D.A. **Certificação de Material de Referência de Minério de Ferro Utilizando Programa Interlaboratorial**. São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Química - USP. Dissertação de Mestrado, 2007.123p.
- 42 SOUZA, V. DE; RODRIGUES, J.M.; et al. Evaluation of the stability of ethanol in water certified reference material : measurement uncertainty under transport and storage conditions. **Accerd. Qual. Assur.**, v. 13, p. 717–721, 2008.
- 43 TAGLIAFERRO, F.S.; FERNANDES, E.A.N.; et al. Quality assessment of organic coffee beans for the preparation of a candidate reference material. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 269, n. 2, p. 371–375, 2006.
- 44 MOREIRA, E.G. **Preparo e Caracterização de um Material de Referência de Mexilhão Perna Perna (Linnaeus, 1758)**. São Paulo, Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares - USP. Tese de Doutorado, 2010.283p.
- 45 MOREIRA, E.G.; VASCONCELLOS, M.B.A.; et al. Applying INAA to the homogeneity study of a Perna perna mussel reference material. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 291, n. 1, p. 107–111, 2011.

- 46 MOREIRA, E.G.; VASCONCELLOS, M.B.A.; et al. Long-term stability study on a Perna perna mussel candidate reference material. **Accerd. Qual. Assur.**, v. 15, n. 4, p. 233–238, 2010.
- 47 ULRICH, J.C. **Preparação e Caracterização de um Material de Referência de Peixe**. São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - USP. Tese de Doutorado, 2011.114p.
- 48 ULRICH, J.C.; SARKIS, J.E.S. Preparation and certification of a reference material for the total mercury and methylmercury mass fractions in fish. **Accerd. Qual. Assur.**, v. 18, n. 6, p. 511–516, 2013.
- 49 CARIONI, V.M.O.; CHELEGÃO, R.; et al. Feasibility study for the preparation of a tuna fish candidate reference material for total As determination. **Accerd. Qual. Assur.**, v. 16, p. 453–458, 2011.
- 50 BRANDÃO, M.L.L.; COSTA, J. de C.B.; et al. Desenvolvimento de material de referência para microbiologia de alimentos contendo estafilococos coagulase positiva em matriz queijo. **Braz. J. Food Technol.**, v. 16, n. 1, p. 73–79, 2013.
- 51 CARDOSO, M.H.W.M.; NÓBREGA, A.W. da; et al. Preparação de um material de referência certificado para controle de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros: estudo da estabilidade. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 30, n. 2, p. 439–446, 2010.
- 52 LIMA, D.C.; SANTOS, A.M.P. dos; et al. Principal component analysis and hierarchical cluster analysis for homogeneity evaluation during the preparation of a wheat flour laboratory reference material for inorganic analysis. **Microchem. J.**, v. 95, n. 2, p. 222–226, 2010.
- 53 SILVA, P.H.T. **Avaliação de Parâmetros e Produção de Materiais de Referência de Suplemento Mineral para Nutrientes e Contaminantes Inorgânicos**. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar. Dissertação de Mestrado, 2011.111p.
- 54 BOSSU, C.M. **Produção e Caracterização de Material de Referência de Forrageira para Nutrientes e Contaminantes Inorgânicos**. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar. Tese de Doutorado, 2013.119p.
- 55 NAMIESNIK, J.; ZYGMUNT, B. Role of reference materials in analysis of environmental pollutants. **Sci. Total Environ.**, v. 228, p. 243–257, 1999.

- 56 MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/internacional/indicadores-e-estatisticas/balanca-comercial>. Acesso em Maio de 2014.
- 57 MANAHAN, S.. **Fundamentals of Environmental Chemistry**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001.993p.
- 58 BRADY, N.C. **Natureza e Propriedades dos Solos**. Rio de Janeiro, Brasil: Livraria Freitas Bastos S.A, 1983.647p.
- 59 MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu Impacto Ambiental: Micronutrientes e Metais Pesados - Mitos, Mistificação e Fatos**. Piracicaba, Brasil: Produquímica Indústria e Comércio Ltda, 1994.153p.
- 60 MELO, V.D.F.; ALLEONI, L.R.F. **Química e Mineralogia do Solo. Parte II - Aplicações**. Viçosa, Brasil: Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo, 2009.530 – 581p.
- 61 SHAKHASHIRO, A.; TARJAN, S.; et al. IAEA-447: a new certified reference material for environmental radioactivity measurements. **Appl. Radiat. Isotopes**, v. 70, n. 8, p. 1632–43, 2012.
- 62 LLAURADÓ, M.; TORRES, J.M.; et al. Preparation of a soil reference material for the determination of radionuclides. **Anal. Chim. Acta**, v. 445, p. 99–106, 2001.
- 63 KOCCMAN, D.; BLOOM, N.S.; et al. Preparation and characterization of a soil reference material from a mercury contaminated site for comparability studies. **J. Environ. Manag.**, v. 81, n. 2, p. 146–54, 2006.
- 64 USEPA. Agency United States Environmental Protection. Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. December, p. 1–20, 1996.
- 65 USEPA. Agency United States Environmental Protection. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. February, p. 1–30, 2007.
- 66 USEPA. Agency United States Environmental Protection. Acid digestion of sediments, sludges, and soils. December, p. 1–12, 1996.
- 67 SALDANHA, M.F.C.; PÉREZ, D.V.; et al. Avaliação de cinco tipos de abertura para determinação dos teores de ferro, manganês e zinco em alguns solos brasileiros. **Pesq. and. CNPS**, v. 1, p. 1–10, 1997.

- 68 CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Disponível em : <http://www.mma.gov.br/port/conama>. Acesso em Maio de 2014. 2009.
- 69 RAIJ, B. VAN; ANDRADE, J.C. DE; et al. **Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais**. Campinas, Brasil: Instituto Agrônomo Campinas (SP), 2001.285p.
- 70 CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Diretoria Nº 045/2014/E/C/I, DE 20 de Fevereiro de 2014. p. 1–4, 2014.
- 71 CASARIN, D.C.P. Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo. **CETESB**, p. 73, 2001.
- 72 NOGUEIRA, A.R.D.A.; SOUZA, G.B. **Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos**. São Carlos, Brasil: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005.334p.
- 73 CLAESSEN, M.E.C.; BARRETO, W.D.O.; et al. **Manual de Métodos de Análise de Solo**. Rio de Janeiro, Brasil: Centro Nacional de Pesquisa de Solos Embrapa, 1997.7–9p.
- 74 KRUG, F.J. **Métodos de Preparo de Amostra**. Piracicaba, Brasil: 2010.340p.
- 75 HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; et al. **Princípios de Análise Instrumental**. Porto Alegre, Brasil: Bookman, 2009.245p.
- 76 BRITO, N.M.; JUNIOR, O.P.D.A.; et al. Validação de métodos analíticos : estratégia e discussão. **Pesticidas: R. Ecotox. Meio Ambiente**, v. 13, p. 129–146, 2003.
- 77 NAOZUKA, J.; VIEIRA, E.C.; et al. Elemental analysis of nuts and seeds by axially viewed ICP OES. **Food Chem.**, v. 124, n. 4, p. 1667–1672, 2011.
- 78 GRUBBS, F.E. Procedures for detecting outlying observations in samples. **Technometrics**, v. 11, n. 1, p. 1–21, 1969.
- 79 SOUZA, G.B. de; NOGUEIRA, A.R.A.; et al. Proficiency testing of animal nutrition laboratories. **Accerd. Qual. Assur.**, v. 14, p. 455–460, 2009.

APÊNDICE A – CERTIFICADO DE ANÁLISES DO MATERIAL DE REFERÊNCIA DE SOLO

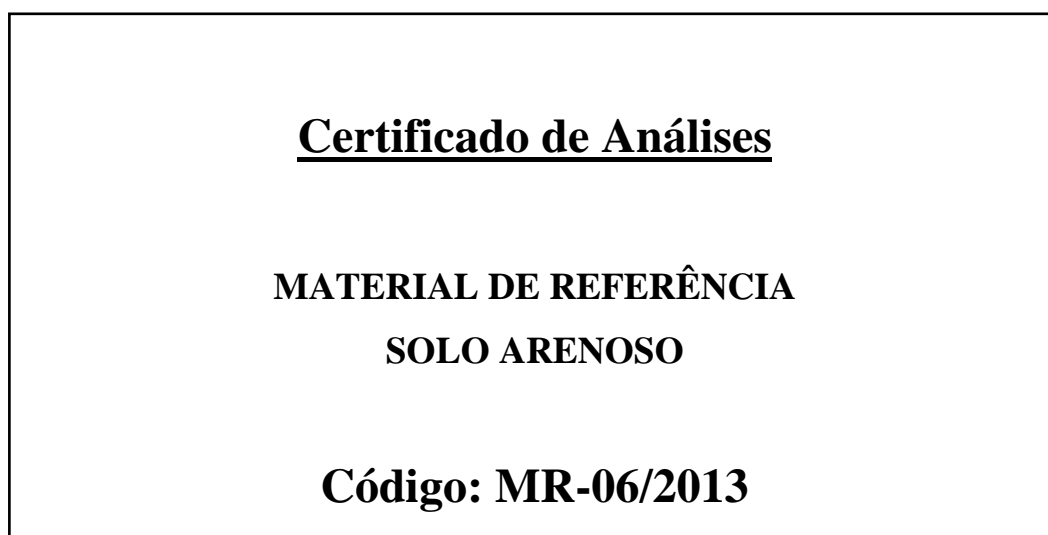


Tabela 1. Valores de referência para os teores extraíveis atribuídos aos elementos determinados no MR-06/2013 e incerteza expandida (U_{MR})* em porcentagem

Elementos	Média $\pm U_{MR}$	U_{MR} (%)
As (mg kg ⁻¹)	59,3 \pm 7,2	12
Ca (g kg ⁻¹)	0,26 \pm 0,07	27
Cd (mg kg ⁻¹)	94,0 \pm 11,5	12
Cr (g kg ⁻¹)	0,12 \pm 0,03	23
Cu (mg kg ⁻¹)	8,8 \pm 4,0	46
Fe (g kg ⁻¹)	32,9 \pm 12,7	39
K (g kg ⁻¹)	0,24 \pm 0,07	30
Mg (g kg ⁻¹)	0,33 \pm 0,06	18
Mn (g kg ⁻¹)	0,13 \pm 0,02	15
Na (g kg ⁻¹)	0,08 \pm 0,03	32
P (g kg ⁻¹)	0,21 \pm 0,05	24
Pb (mg kg ⁻¹)	170,2 \pm 20,1	12

*Intervalo a 95% de confiança; $k=2$.

Tabela 2. Valores informativos para os teores totais atribuídos aos elementos determinados no MR de solo (g kg^{-1} ou mg kg^{-1}), por INAA - Análise por Ativação Neutrônica Instrumental

Elemento (Unidade)	Intervalo Informativo	Média	Número de Laboratório
As (mg kg^{-1})	71- 85	79	2
Ca (g kg^{-1})	32 – 42	36	1
Cd (mg kg^{-1})	69 - 122	106	2
Cr (mg kg^{-1})	133 – 187	167	2
Fe (g kg^{-1})	49 – 63	53	2
K (mg kg^{-1})	231 - 397	333	1
Mn (mg kg^{-1})	190 - 249	219	1
Na (mg kg^{-1})	102 – 123	111	1

Ensaio colaborativo

Os resultados para os teores extraíveis apresentados na Tabela 1 foram obtidos através do ensaio colaborativo que contou com a participação efetiva de empresas da iniciativa privada, instituições de pesquisa estatais e de ensino superior, em um total de 7 participantes. O intervalo informativo para os teores totais apresentados na Tabela 2 foram obtidos com o emprego de análise por ativação neutronica instrumental, cujos valores foram reportados por 2 laboratórios.

Obtenção do material

O material de referência produzido foi amostra de solo latossolo vermelho amarelo distrófico, possui uma classificação textural franco-argilo-arenosa. Esta amostra foi previamente corrigida e contaminada e para tanto recebeu adição de calcário dolomítico ($1,43 \text{ t ha}^{-1}$), KCl, superfosfato simples e os contaminantes Cr, Pb, Cd e As, adicionados na forma de soluções preparadas a partir dos seguintes sais: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e

$\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. Após coleta, realizada 12 meses após adição dos contaminantes, a amostra foi homogeneizada e seca a temperatura ambiente durante quinze dias.

Para diminuir o tamanho de partículas foi utilizado moinho de almofariz e pistilo da Marca Retch RM 200 (Alemanha). Foram obtidos aproximadamente 65 kg de material seco e moído, com tamanho de partícula de aproximadamente 390 μm . Após as etapas moagem e homogeneização, a amostra foi avaliada quanto à homogeneidade e à estabilidade. Todas as etapas de preparo seguiram as normas ISO GUIA 30-35.

Uso pretendido

Esta amostra destina-se ao uso como um material de referência para a medição de elementos traço em amostras de solo. O material também pode ser utilizado em controle de qualidade dentro do laboratório.

Preparação do material

Um lote de aproximadamente 65 kg de solo foi homogeneizado em uma betoneira própria para solos com paredes revestidas por resina epóxi inerte. Adicionou-se aproximadamente 45 kg de solo na betoneira, que foi acionada por 15 min. A seguir foram retirados cerca de 20 kg de solo e adicionados mais 20 kg, que foram homogeneizados por mais 15 min. Esse processo foi repetido até que todo material do balde fosse homogeneizado, contabilizando agitação final de 45 min. Em seguida foi realizado o envase do material, resultando em um total de 645 frascos de vidro âmbar contendo 100 g de amostra para cada frasco.

Visando assegurar a estabilidade a longo prazo e esterilização do material, foi realizada irradiação com raios gama (Co^{60}) (20 a 25 kGy) no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) em São Paulo, SP.

Instruções para uso

A massa mínima recomendada para a análise é de 200 mg. Deve-se realizar uma homogeneização manual prévia do frasco antes da análise e deve-se tomar as devidas precauções para evitar a contaminação do material restante no frasco.

O preparo da amostra visando obtenção dos teores extraíveis dos analitos empregou ácido nítrico 14 mol L⁻¹ com aquecimento assistido por radiação micro-ondas e foi baseada em metodologia recomendada pela legislação brasileira (CONAMA N° 420), que por sua vez segue protocolo estabelecido pelo órgão ambiental americano, USEPA 3051.

Homogeneidade

A homogeneidade entre frascos empregou 12 frascos e empregou as determinações de As, Cd, Cr, Pb, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado (ICP OES). Foi realizada a análise de variância ANOVA de fator único, sendo possível observar que o $F_{\text{crítico}}$ foi maior que o $F_{\text{analítico}}$ para As, Cd, Cr, Pb, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e P indicando resultados estatisticamente semelhantes a 95% de confiança e o material pode, portanto, ser considerado homogêneo para esses elementos (para uma massa de amostra de 200 mg).

Estabilidade

Foram avaliados dois tipos de testes de estabilidade a serem considerados em materiais de referência: a estabilidade a curto prazo e a estabilidade a longo prazo. Foram sorteados frascos aleatoriamente e colocados dentro de sistema fechado no qual a temperatura foi fixada em 37°C na estufa e a umidade em 100%, simulando épocas de chuva e calor. Este sistema fechado foi mantido durante 1 mês e feita a quantificação em triplicata dos analitos de interesse nos frascos sorteados.

Para o teste de estabilidade a longo prazo foram sorteados aleatoriamente 3 frascos. A cada 2 meses foi feita uma quantificação dos analitos em estudo, em triplicata, durante o período de 6 meses a temperatura ambiente (cerca de 25 °C), sendo realizado a fim de acompanhar a estabilidade do material sob condições de armazenamento. Foram feitas as determinações por ICP OES de As, Cd, Cr, Pb, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P. Foi realizada a análise de variância ANOVA de fator único, sendo possível observar que o $F_{\text{crítico}}$ foi maior que o $F_{\text{analítico}}$ para todos os elementos de interesse, indicando que os resultados não diferiram de forma significativa a 95% de confiança e o material foi considerado estável nos dois testes avaliados. A estabilidade a longo prazo foi avaliada pela inclinação da reta e confirmada a estabilidade para os analito em estudo a 95% de confiança.

Tamanho de partículas

Foi realizado o ensaio de distribuição de partícula usando o modo de dispersão seca. O tamanho de partícula apresentou que aproximadamente 90% do material estão abaixo de 390 μm de acordo com a Figura 1.

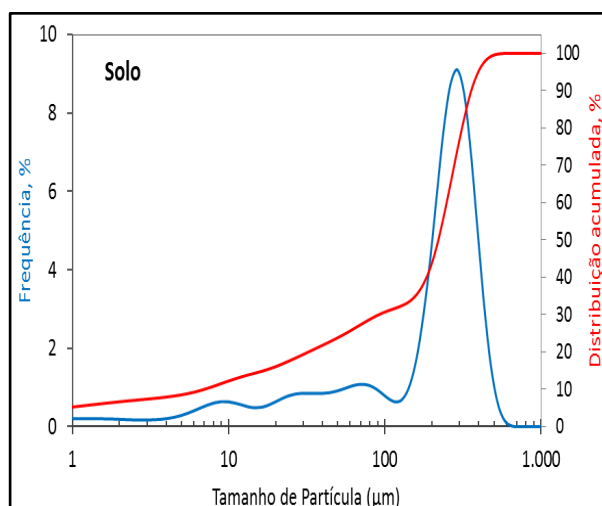


Figura 1. Distribuição do tamanho de partículas da amostra de referência de solo.

Incertezas

A abordagem das incertezas em medições químicas, conforme preconizada na norma ISO GUIDE 35, que dispõe sobre os procedimentos para a certificação de materiais de referência, pressupõe a declaração das incertezas de todas as etapas de sua preparação. É exigido do produtor de material de referência agregar a incerteza dos valores certificados. Dessa forma, a estimativa da incerteza expandida associada aos valores de concentração (U_{MR}) é obtida pela combinação das contribuições referentes à incerteza padrão da caracterização (u_{char}), da homogeneidade (u_{bb}), da estabilidade a curto prazo (u_{sts}) e da estabilidade a longo prazo (u_{lts}), conforme Equação abaixo:

$$U_{MRC} = k\sqrt{u_{char}^2 + u_{bb}^2 + u_{sts}^2 + u_{lts}^2}$$

Adotou-se para o fator de abrangência k igual a 2, referente a intervalo de confiança de 95%. Para os cálculos das incertezas da homogeneidade, da estabilidade e da caracterização foi também seguida a norma ISO Guia 35.

Armazenamento

O material deve ser mantido fechado no frasco original e armazenado no escuro em temperatura de aproximadamente 25 °C. Os frascos também podem ser armazenado em dessecador.

Prazo de validade

Estipulou-se que o tempo de prateleira poderia ser em torno de 5 anos para o material de referência de solo. É possível que o material seja estável por tempo maior que o definido. Dessa forma, este material ficará como produto a ser monitorado semestralmente, até expirar o prazo de validade do material. Os resultados serão atualizados na carta controle e disponibilizados no site da Embrapa.

Técnicas utilizadas para determinação de cada elemento

A técnica utilizada para determinações dos valores extraíveis de todos os elementos foi ICP OES - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente e o método para a abertura da amostra foi o EPA 3051. A técnica utilizada para determinações dos valores totais dos elementos foi por meio da análise por ativação neutrônica instrumental - INAA.

Participantes do ensaio colaborativo

Laboratório Exata

CBO Assessoria e Análises

CENA – USP / Piracicaba - SP

Embrapa Solos

Embrapa Milho e Sorgo

Embrapa Pecuária Sudeste

Instituto Agrônômico - IAC

IPEN – CNEN/SP

Universidade Federal de São Carlos- Campus Araras
