

PATRÍCIA ROBERTA DAMETTO

**“Desenvolvimento de um sistema de injeção em fluxo para a
determinação seqüencial de fosfito e fosfato em amostras
agroindustriais por espectrofotometria”**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Química.

Orientador: Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto

**Araraquara
2007**

A Deus, o Autor da vida

Digno de receber Toda glória e Toda honra

*Aos meus amados pais Roberto e Regina,
pelo amor, ensinamento, confiança e apoio!*

*Aos meus irmãos Alessandra e Gabriel, pelo companheirismo,
amizade e carinho!*

*Ao meu namorado Edison, pelo amor, paciência ,amizade,
companheirismo e incentivo!*

*A Deus, que me permite viver juntamente com a minha família,
que é tão maravilhosa..... Amo muito vocês!!!*

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo que Ele concedeu em minha vida e a Virgem Maria que sempre me acompanhou iluminando a minha vida.

Aos meus pais, irmãos, cunhado e ao meu namorado que estiveram ao meu lado me dando força e incentivo em todos os momentos difíceis.

À toda minha família e em especial aos meus tios Sebastião e Maria Helena que sempre acreditaram em mim.

Ao Professor Dr. José Anchieta Gomes Neto pela orientação, paciência, amizade e ensinamentos.

Ao Professor Dr. Massao Ionashiro pelos ensinamentos, amizade e porque acreditou em meu potencial me incentivando a cursar o Doutorado.

À Professora Dr^a. Mercedes de Moraes, pelo carinho, ensinamentos, amizade e pela colaboração durante a realização deste trabalho.

Aos amigos Márcio Fernando Bergamini e André Luís dos Santos pelo auxílio no tratamento de alguns resultados.

Aos meus amigos de equipe do Grupo de Espectroanalítica e Automação: Silvana, Marielsa, Beatriz, Vanessa, Naíse, Roberta, Volnei, Carol, Gian e Adriana, pela união, cooperação e amizade.

Às secretárias da Seção de Pós-Graduação Sandra, Célia e Patrícia pelo atendimento atencioso e amigo.

Às bibliotecárias pela amizade e eficiente atendimento.

Aos funcionários do IQ pelo atendimento sempre atencioso e amigo.

Aos amigos do IQ, Daniel, Amadeu, Elaine, Fábio (Pikachu), Juliana, Josi Magio, André, Antônio, Lidiane, Adriano, Emanuel, Cláudio, Michele, Renata, Alexandre, Douglas, Néia, Josi, Adriana (me perdoem se esqueço de alguém), pela amizade, pelas nossas discussões em grupos de estudos durante as disciplinas, pelo aprendizado e pelos momentos de descontração e alegria.

“O Senhor é meu pastor, nada me faltará.”

Salmos 22

“A vida está cheia de desafios que, se aproveitados de forma criativa, transformam-se em oportunidades.”

Maxwell Maltz

RESUMO

Um sistema de injeção de fluxo com preparação da amostra em linha foi desenvolvido para a determinação seqüencial de fosfito e fosfato em fertilizantes líquidos por espectrofotometria. Após a injeção da amostra, fosfito é oxidado a fosfato por solução ácida de permanganato de potássio ($1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 + 1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$) e o fosfato é determinado pelo método Azul de Molibdênio. O complexo azul formado, monitorado a 700 nm, é registrado na forma de um pico cuja altura é proporcional a concentração de fosfito e fosfato presentes na amostra. Quando a amostra percorre o mesmo percurso, mas sem a adição do oxidante ao sistema, o sinal de absorvância registrado corresponde somente à concentração de fosfato. Pela diferença entre os sinais, é possível calcular a concentração de fosfito na amostra de fertilizante. A influência da concentração dos reagentes e do volume de amostra injetado foi investigada. A velocidade analítica do sistema proposto é correspondente a aproximadamente 15 determinações por hora [0,05 – 0,40% m/v H_3PO_3 ; $r^2 = 0,99912$], consumindo 100 μL de amostra, 4,3 mg KMnO_4 , 135 mg $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 27 mg de ácido ascórbico e 260 mg de ácido sulfúrico por determinação. O limite de detecção (L.O.D) e o limite de quantificação (L.O.Q) foram $9,64 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) e $32,1 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v), respectivamente. Os resultados obtidos são precisos [r.s.d. $\leq 3,6\%$ para 0,10% (m/v) H_3PO_3 , $n = 13$] e concordantes com os valores obtidos por amperometria em fluxo ao nível de 95% de confiança. A precisão e exatidão do método foram também avaliadas pelo teste de adição e recuperação do analito e o intervalo de recuperação foi de 94 a 100%.

Palavras-chave: Fosfito, Fosfato, Fertilizante, Análise por injeção em fluxo.

ABSTRACT

A flow injection system with online sample preparation was developed for the sequential determination of phosphite and phosphate in liquid fertilizers by spectrophotometry. After loop-based injection, phosphite is oxidized to phosphate by an acid potassium permanganate solution ($1.0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 + 1.0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$). The phosphate generated is determined by the molybdenum blue method. The blue complex formed is monitored to 700 nm and the analytical signal is registered in the form of a pick whose height is proportional to the concentration of phosphite and phosphate presents in the sample. When the sample travels the same road, but without the oxidizer addition to the system, the transient absorbance sign corresponds to the concentration of phosphate. By the difference between the two signals it is possible to calculate the concentration of phosphite in the sample of fertilizer. The effects of the concentration of the reagents, injected sample volume and dispersion were investigated. The analytical throughput speed of the proposed system is approximately 15 determinations per hour [0.05 – 0.40% m/v H_3PO_3 ; $r^2 = 0,99912$], consuming 100 μL of sample, 4.3 mg KMnO_4 , 135 mg $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 27 mg of ascorbic acid and 260 mg of sulfuric acid per determination. The limit of detection (L.O.D) and the limit of quantification (L.O.Q.) were $9.64 \times 10^{-4}\%$ (m/v) and $32.1 \times 10^{-4}\%$ (m/v), respectively. Results are precise [r.s.d. $\leq 3.6\%$ for 0.10% m/v H_3PO_3 , $n = 13$] and in agreement with those obtained by flow-injection chronoamperometry at 95% confidence level. The accuracy of the proposed method was evaluated by an addition-recovery experiment and all recovered values were in the 94-100% range.

Keywords: Phosphite, Phosphate, Fertilizer, Flow injection analysis.

LISTA DE QUADRO

Quadro 1. Unidades propulsoras empregadas nos sistemas de análises em fluxo. (a) bomba peristáltica (Prados-Rosales et al., 2002); (b) seringas (Miro et al., 2002); (c) bomba pistão (Prados-Rosales et al., 2002) onde DCV = directional check valves, in e out = entrada e saída da solução, respectivamente; (d) bomba solenóide, legendas idem (c).32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Válvulas solenóide e injetor-comutador proporcional.33

Figura 2. Diagrama de fluxos para determinação de fosfito. IC: injetor - comutador; L: alça de amostragem (100 μ L); A: amostra ou solução analítica (1,0 mL min^{-1}); R₁: 5,0 10^{-3} mol L⁻¹ KMnO₄ + 2,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (1,0 mL min^{-1}) ou R₁: 5,0 10^{-4} mol L⁻¹ KMnO₄ + 2,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (1,0 mL min^{-1}); R₂: 5% (m/v) (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O + 0,5 mol L⁻¹ H₂SO₄ (0,9 mL min^{-1}); R₃: 1% (m/v) de ácido ascórbico (0,9 mL min^{-1}); C: 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (0,9 mL min^{-1}); B₁, B₂ e B₃: bobinas de reação e de mistura (10, 30 e 100 cm, respectivamente); x, y e z: pontos de confluência; W: frasco para coleta de resíduos. A seta indica o sentido de movimento de IC.....44

Figura 3. Diagrama de fluxos para determinação de fosfito. IC: injetor - comutador; L: alça de amostragem (100 μ L); A: amostra ou solução analítica (3,0 mL min^{-1}); R₁: 1,0 10^{-2} mol L⁻¹ KMnO₄ + 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (0,9 mL min^{-1}); R₂: 5% (m/v) (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O + 0,5 mol L⁻¹ H₂SO₄ (0,9 mL min^{-1}); R₃: 1% (m/v) de ácido ascórbico (0,9 mL min^{-1}); C: H₂O (0,9 mL min^{-1}); B₁, B₂ e B₃: bobinas de reação e de mistura (50, 30 e 100 cm, respectivamente); x, y e z: pontos de confluência; W: frasco para coleta de resíduos. A seta indica o sentido de movimento de IC.....46

Figura 4. Diagrama de fluxos para determinação de fosfito e fosfato. IC: injetor – comutador; L₁ e L₂: alças de amostragem (100 μ L); A: amostra ou solução analítica (3,0 mL min^{-1}); R₁: 1,0 10^{-2} mol L⁻¹ KMnO₄ + 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (0,9 mL min^{-1}); R₂: 5% (m/v) ((NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O + 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (0,9 mL min^{-1}); R₃: 1% (m/v) de ácido ascórbico (0,9 mL min^{-1}); R₄: solução 1,0 mol L⁻¹ de ácido sulfúrico (0,9 mL min^{-1}); C: H₂O (0,9 mL min^{-1}); B₁, B₂ e B₃: bobinas de reação e de mistura (50, 30 e 100 cm, respectivamente); x, y e z: pontos de confluência; W: frasco para coleta de resíduos. A seta indica o sentido do movimento IC.....48

Figura 5. Curvas analíticas para fosfito empregando diferentes concentrações de permanganato de potássio (R_1) : $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (a) e $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (b) ambas preparadas em meio $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido sulfúrico.....55

Figura 6. Influência da variação do comprimento da bobina B_1 na absorvância utilizando o sistema FIA da Fig. 2: $R_1 = 5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 + 2,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$; $R_2 = 5,0\% \text{ m/v } (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O} + 0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$; $R_3 = 1,0\% \text{ m/v}$ ácido ascórbico.....56

Figura 7. Curvas analíticas para fósforo (fosfato) obtida com o sistema FIA da Fig. 2 empregando como R_1 solução $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 + 1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (a) e R_1 solução $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (b).....58

Figura 8. Registro de sinais transientes de fosfito (0,05; 0,10; 0,20; 0,40% m/v H_3PO_3) obtido com o sistema FIA da Fig. 3: R_1 solução $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 + 1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, R_2 solução 5,0% m/v $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O} + 1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$; $R_3 = 1,0\% \text{ m/v}$ ácido ascórbico.....58

Figura 9. Sinais transientes obtidos com o sistema da Fig. 3 referentes a 0,10% (m/v) H_3PO_3 (a), $1,0 \cdot 10^{-4}\%$ m/v P- PO_4 (b), $2,0 \cdot 10^{-4}\%$ m/v P- PO_4 (c), $4,0 \cdot 10^{-4}\%$ m/v P- PO_4 (d), $8,0 \cdot 10^{-4}\%$ m/v P- PO_4 (e), $16,0 \cdot 10^{-4}\%$ m/v P- PO_4 (f) e $15,0 \cdot 10^{-4}\%$ m/v P- PO_4 (g).59

Figura 10. Sinais transientes em duplicata referentes a injeção de 0,40% (m/v) H_3PO_3 via L_1 (pico à esquerda) e L_2 (pico à direita) obtidos com o sistema da Fig. 4 com $a = 2,5 \text{ cm}$61

Figura 11. Sinais transientes em duplicata referentes a injeção de 0,40% (m/v) H_3PO_3 via L_1 (pico à esquerda) e L_2 (pico à direita) obtidos com o sistema da Fig. 4 com $a = 5 \text{ cm}$61

Figura 12. Sinais transientes em duplicata referentes a injeção de 0,40% (m/v) H_3PO_3 via L_1 (pico à esquerda) e L_2 (pico à direita) obtidos com o sistema da Fig. 4 com $a = 10$ cm.62

Figura 13. Sinais transientes em duplicata referentes a injeção de 0,40% (m/v) H_3PO_3 via L_1 (pico à esquerda) e L_2 (pico à direita) obtidos com o sistema da Fig. 4 com $a = 25$ cm.62

Figura 14. Sinais transientes em duplicata referentes a injeção de 0,40% (m/v) H_3PO_3 via L_1 (pico à esquerda) e L_2 (pico à direita) obtidos com o sistema da Fig. 4 com $a = 50$ cm.63

Figura 15. Sinais transientes obtidos com o sistema da Fig. 4 correspondentes a injeção ($n=5$) de soluções analíticas contendo $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 (a), 0,40% (m/v) H_3PO_3 (b) e $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 + 0,40% (m/v) H_3PO_3 (c).64

Figura 16. Influência da variação da concentração de permanganato de potássio na absorbância: $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4$ + $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (a); $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4$ + $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (b); $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4$ + $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (c).....65

Figura 17. Curvas analíticas para fosfito variando a concentração de permanganato de potássio. Soluções analíticas: 0,05; 0,10; 0,20 e 0,40% (m/v) H_3PO_365

Figura 18. Influência da variação da concentração de molibdato de amônio na absorbância: 2,5% m/v $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (a); 5,0% m/v $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (b); 7,5% m/v $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (c).....66

Figura 19. Curvas analíticas para fosfito variando a concentração de molibdato de amônio. Soluções analíticas: 0,05; 0,10; 0,20 e 0,40% (m/v) H_3PO_367

| | |
|--|----|
| Figura 20. Influência da variação da concentração de ácido ascórbico na absorbância: 0,5% m/v ácido ascórbico (a); 1,0% m/v ácido ascórbico (b); 2,0% m/v ácido ascórbico (c)..... | 68 |
| Figura 21. Curvas analíticas para fosfito variando a concentração de ácido ascórbico. Soluções analíticas: 0,05; 0,10; 0,20 e 0,40% (m/v) H ₃ PO ₃ | 68 |
| Figura 22. Influência da variação do volume de amostra na absorbância: 50 µL (V ₁); 100 µL (V ₂); 200 µL (V ₃)..... | 69 |
| Figura 23. Curvas analíticas para fosfito variando o volume de amostra injetado. Soluções analíticas: 0,05; 0,10; 0,20 e 0,40% (m/v) H ₃ PO ₃ | 70 |
| Figura 24. Curva analítica para fosfito. Soluções analíticas: 0,05; 0,10; 0,20 e 0,40% (m/v) H ₃ PO ₃ correspondentes a 433, 866, 1730 e 3462 (10 ⁻⁴ % m/v) P ₂ O ₅ , respectivamente..... | 73 |
| Figura 25. Sinais transientes obtidos com o sistema da Fig. 4. Da esquerda para a direita os sinais correspondem ao branco analítico e as soluções 50 mg L ⁻¹ de P-PO ₄ e 100 mg L ⁻¹ de P-PO ₄ (6 picos); e os sinais em triplicata correspondem a: 0,05% (m/v) H ₃ PO ₃ ; 0,10% (m/v) H ₃ PO ₃ ; 0,20% (m/v) H ₃ PO ₃ e 0,40% (m/v) H ₃ PO ₃ , respectivamente..... | 73 |
| Figura 26. Registro de sinais transientes obtidos com o sistema da Fig. 4 e correspondentes à solução analítica de fosfito 0,10% (m/v) H ₃ PO ₃ injetada treze vezes sucessivamente..... | 74 |

Figura 27. Sinais transientes obtidos com o sistema da Fig. 4 associados ao teste de adição e recuperação. O conjunto **a** corresponde aos sinais transientes de uma amostra de fertilizante diluída 500 vezes de modo a conter $2,0000 \text{ g L}^{-1}$; o conjunto **b** corresponde a amostra de fertilizante diluída + $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO₄; o conjunto **c** corresponde a amostra de fertilizante diluída + $20,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO₄; o conjunto **d** corresponde a amostra de fertilizante diluída + 0,05% (m/v) H₃PO₃; o conjunto **e** corresponde a amostra de fertilizante diluída + 0,20% (m/v) H₃PO₃; o conjunto **f** corresponde a amostra de fertilizante diluída + 0,05% (m/v) H₃PO₃ + $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO₄.....75

Figura 28. Sinais transientes obtidos com o sistema FIA da Fig. 4 para a determinação de fosfito e fosfato. Os sinais da esquerda para a direita correspondem às absorvâncias obtidas em triplicata para soluções analíticas (0,05 a 0,40% m/v H₃PO₃) seguidas de amostras de fertilizante, sendo os sinais menores correspondentes ao teor de fosfato presente nas amostras e os sinais maiores correspondentes ao teor de fosfito mais fosfato, ambos para a alça de amostragem de 20 cm de comprimento (100 µL).....76

Figura 29. Ilustração de um sinal transiente registrado em alta velocidade com seus respectivos Tr e Tw.78

Figura 30. Sinais transientes obtidos com o sistema FIA da Fig. 4 a partir da solução analítica de fosfito 0,10% (m/v) H₃PO₃ utilizando alças de amostragem 10 cm (a); 20 cm (b); 30 cm (c); 40 cm (d); 50 cm (e); 70 cm (f); 160 cm (g) e 250cm (h).....79

Figura 31. Gráfico de resposta do volume injetado sobre a razão A/A_0 para a solução analítica 0,10% (m/v) H₃PO₃.80

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Exigências de teores de fósforo (kg/ ha) nas diferentes culturas..... | 23 |
| Tabela 2. Porcentagem de interferência da razão [fosfito] pela [fosfato]. | 70 |
| Tabela 3. Resultados para verificar a estabilidade de fosfito | 71 |
| Tabela 4. Recuperação de fosfito. | 75 |
| Tabela 5. Resultados comparativos (média \pm intervalo de confiança da média) da determinação por injeção em fluxo de fosfito [% (m/m) P ₂ O ₅] em fertilizantes líquidos..... | 77 |
| Tabela 6. Características do método | 81 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

| | |
|---------|--|
| FIA | Acrônimo para <i>Flow Injection Analysis</i> , em português Análise por Injeção em Fluxo |
| IC | Injetor-comutador |
| L | Alça de amostragem |
| C | Solução transportadora |
| A | Amostra ou solução analítica |
| W | Frasco de coleta de resíduos |
| x, y, z | Pontos de confluência |
| D | Coeficiente de dispersão |
| T_r | Tempo de residência |
| T_w | Tempo de limpeza |
| f | Frequência analítica |
| nm | Unidade de comprimento de onda em nanômetros |
| MAP | Acrônimo para <i>Monoammonium Phosphate</i> , em português Fosfato de Monoamônio |
| DAP | Acrônimo para <i>Diammonium Phosphate</i> , em português Fosfato de Diamônio |
| PMB | Acrônimo para <i>Phosphomolybdenun Blue</i> , em português Azul de Fosfomolibdênio |
| MVP | Acrônimo para <i>Molibdovanadophosphoric Acid</i> , em português Molibdovanadofosfórico |
| MPA | Acrônimo para <i>Molybdophosphoric Acid</i> , em português Ácido Molibdofosfórico |
| r.s.d | Acrônimo para <i>Relative Standard Deviation</i> , em português Desvio Padrão Relativo |
| sd | Acrônimo para <i>Standard Deviation</i> , em português Desvio Padrão |
| L.O.D. | Acrônimo para <i>Limit of Detection</i> , em português Limite de Detecção |
| L.O.Q | Acrônimo para <i>Limit of Quantification</i> , em português Limite de Quantificação |

| | |
|-------|---|
| r^2 | Coeficiente de correlação linear |
| DCV | Acrônimo para <i>Directional Check-Valves</i> , em português Checar Válvulas de Direcionamento |
| ICH | Acrônimo para <i>International Conference Harmonization</i> , em português Conferência Nacional de Harmonização |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 21 |
| 1.1 Os elementos essenciais para as plantas | 21 |
| 1.2 A importância do fósforo..... | 21 |
| 1.3 Fertilizantes..... | 25 |
| 1.3.1 Fosfato em fertilizantes..... | 26 |
| 1.3.2 Fosfito em fertilizantes..... | 26 |
| 1.4 Analisadores em fluxo e análise por injeção em fluxo..... | 27 |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA | 36 |
| 2.1 Determinação de fosfito..... | 36 |
| 3. PROPOSTA DE TRABALHO..... | 40 |
| 4. PARTE EXPERIMENTAL | 41 |
| 4.1 Materiais..... | 41 |
| 4.1.1 Instrumentos e acessórios | 41 |
| 4.1.2 Reagentes, soluções e amostras..... | 41 |
| 4.2 Método..... | 42 |
| 4.2.1 Sistema FIA preliminar..... | 44 |
| 4.2.1.1 Estudo da influência da concentração de permanganato de potássio..... | 44 |
| 4.2.1.2 Influência da variação do comprimento da bobina de reação B_1 | 45 |
| 4.2.2 Sistema FIA com oxidação em linha | 45 |
| 4.2.2.1 Otimizando a determinação seqüencial..... | 46 |
| 4.2.2.2 Estudo da conversão de fosfito a fosfato..... | 46 |
| 4.2.3 Sistema FIA proposto..... | 47 |
| 4.2.3.1 Influência da variação do comprimento do segmento a | 48 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 4.2.3.2 | Avaliação do sistema FIA para determinação seqüencial | 49 |
| 4.2.3.3 | Avaliação da influência da variação da concentração de permanganato de potássio (R_1) na absorbância | 49 |
| 4.2.3.4 | Avaliação da influência da variação da concentração de molibdato de amônio (R_2) na absorbância | 49 |
| 4.2.3.5 | Avaliação da influência da variação da concentração de ácido ascórbico (R_3) na absorbância | 50 |
| 4.2.3.6 | Avaliação da influência da variação do volume injetado na absorbância | 50 |
| 4.2.3.7 | Influência da concentração de fosfato na absorbância de fosfito.. | 50 |
| 4.2.3.8 | Estabilidade das soluções analíticas de fosfito e amostra | 50 |
| 4.2.4 | Avaliação das principais figuras de mérito analítico | 51 |
| 4.2.4.1 | Curva Analítica com soluções de fosfito e soluções analíticas de referência para fosfato | 51 |
| 4.2.4.2 | Verificação da repetibilidade do método | 51 |
| 4.2.4.3 | Teste de adição e recuperação | 52 |
| 4.2.4.4 | Análise das amostras | 52 |
| 4.2.4.5 | Velocidade analítica, consumo de reagentes e amostra | 53 |
| 4.2.4.6 | Dispersão | 54 |
| 5. | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 55 |
| 5.1 | Sistema FIA preliminar..... | 55 |
| 5.1.1 | Influência da concentração de permanganato na oxidação do fosfito a fosfato..... | 55 |
| 5.1.2 | Influência da variação do comprimento da bobina de reação B_1 | 56 |
| 5.2 | Sistema FIA com oxidação em linha | 56 |
| 5.2.1 | Otimizando a determinação seqüencial..... | 57 |
| 5.2.2 | Estudo da conversão de fosfito a fosfato..... | 59 |
| 5.3 | Sistema FIA proposto..... | 60 |
| 5.3.1 | Influência da variação do comprimento do segmento a..... | 60 |

| | | |
|---------|--|----|
| 5.3.2 | Avaliação do sistema FIA para determinação seqüencial | 63 |
| 5.3.3 | Avaliação da influência da variação da concentração de permanganato de potássio na absorbância | 64 |
| 5.3.4 | Avaliação da influência da variação da concentração de molibdato de amônio na absorbância..... | 66 |
| 5.3.5 | Avaliação da influência da variação da concentração de ácido ascórbico na absorbância..... | 67 |
| 5.3.6 | Avaliação da influência da variação do volume injetado na absorbância..... | 69 |
| 5.3.7 | Influência da concentração de fosfato na absorbância de fosfito..... | 70 |
| 5.3.8 | Estabilidade de fosfito nas soluções analíticas e amostra..... | 71 |
| 5.3.9 | Avaliação das principais figuras de mérito | 72 |
| 5.3.9.1 | Curva analítica com soluções de fosfito e soluções analíticas de referência para fosfato | 72 |
| 5.3.9.2 | Precisão..... | 73 |
| 5.3.9.3 | Testes de adição e recuperação..... | 74 |
| 5.3.9.4 | Análise das amostras comerciais | 76 |
| 5.3.9.5 | Velocidade analítica, consumo de reagentes e amostra | 77 |
| 5.3.9.6 | Dispersão | 78 |
| 6. | TRATAMENTO DOS RESÍDUOS..... | 82 |
| 7. | CONCLUSÃO | 83 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Os elementos essenciais para as plantas

Os elementos essenciais são fundamentais para o desenvolvimento saudável das plantas e são divididos em dois grupos: macronutrientes e micronutrientes. Os macronutrientes estão divididos em¹:

- macronutrientes naturais: carbono (C), hidrogênio (H) e oxigênio (O);
- macronutrientes primários: nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K);
- macronutrientes secundários: cálcio (Ca), enxofre (S) e magnésio (Mg).

Dentre os micronutrientes se encontram: boro (B), cloro (Cl), cobalto (Co), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), molibdênio (Mo) e zinco (Zn).

Um elemento é classificado como macronutriente ou micronutriente em função das concentrações exigidas pelas plantas. Os macronutrientes são utilizados em maiores proporções e os micronutrientes são utilizados em menores proporções (mg/ Kg)¹.

Os macronutrientes primários podem ser retirados do ar e da água, enquanto os demais nutrientes são retirados das reservas do solo.

Esses nutrientes apresentam uma importância elevada no desenvolvimento das plantas. Os macronutrientes primários e secundários estão associados à composição das proteínas, clorofila, enzimas, formação e fecundação das plantas, formação de sementes, dentre outros. As principais funções dos micronutrientes estão relacionadas com a catálise de reações enzimáticas, fotossíntese, funções metabólicas das plantas, síntese de clorofila etc.

1.2 A importância do fósforo

O fósforo é um macronutriente primário essencial para todas as culturas, devido à sua importante função em muitos processos fisiológicos e biogeoquímicos². É exigido em todos os processos metabólicos das plantas e, frequentemente, influencia a utilização de outros nutrientes¹. Está presente na formação de enzimas e proteínas; é um componente estrutural de fosfo-proteínas, fosfolípidios e ácidos nucleicos,

desempenha função vital no ciclo de vida das plantas e é importante no desenvolvimento da fase reprodutiva delas. Esse elemento também desempenha um papel regulador na formação e translocação de açúcares e amidos promovendo maturidade e qualidade precoces e tem importância fundamental no processo de amadurecimento e formação de sementes³.

Como muitas funções vitais das plantas são influenciadas pelo fósforo, um suprimento menor que o adequado pode afetar o balanço nutricional, resultando em reduções no crescimento e na produção. Esses fatores podem estar associados a sintomas de deficiência ou mais comumente, sem sintomas aparentes. A condição de deficiência sem sintomas aparentes é conhecida como “deficiência obscura”. Plantas com deficiência obscura absorvem menos água, levam mais tempo para chegar à fase reprodutiva e estão mais suscetíveis às baixas temperaturas³.

Ao longo da evolução das técnicas de adubação, o fósforo tem sido um dos nutrientes de mais difícil fornecimento às plantas. Muitos solos têm fósforo, mas este não está disponível no nível ótimo exigido por elas¹ (Tabela 1). Por esta razão, tem-se a necessidade da adubação suplementar em culturas modernas³.

O fornecimento de fósforo torna-se limitado, pois este nutriente pode se fixar ao solo diminuindo a sua disponibilidade e acarretando em contaminações ambientais, afetando a qualidade das águas através da lixiviação, acelerando a eutrofização de lagos e rios⁴.

O fósforo no solo se apresenta na forma inorgânica e orgânica, fazendo parte de compostos com cálcio, ferro e alumínio; em solução, adsorvido de forma trocável com colóides; e grande parte pode ser adsorvida também de forma não disponível para as plantas⁵.

Para aumentar a absorção de fósforo pelas plantas, ele deve ser dissolvido na solução do solo que esteja em contato com as raízes, promovendo a conexão solo-planta, fazendo com que o fósforo seja absorvido e utilizado pela planta. Entretanto, o fósforo é relativamente insolúvel em água. Por este motivo e de outros fatores de fixação tais como pH, temperatura, suprimento de oxigênio, teores de umidade e reações químicas com outros minerais que formam precipitados insolúveis, o fósforo no solo pode ser deslocado várias vezes ao dia. Como o sistema radicular da planta entra

em contato com cerca de 1% do volume do solo, muito fósforo do solo está fora do alcance das plantas³. Quando o fósforo é aplicado via foliar os mesmos fatores de fixação deste nutriente ocorrem na superfície das folhas.

Grandes quantidades de fosfatos têm sido utilizadas para corrigir a deficiência de fósforo em diferentes culturas e fornecer os níveis suficientes, tanto na aplicação foliar quanto no solo. Esta prática tem contribuído para aumentar os custos da cultura e para contaminar o ambiente através de outros problemas associados com o uso excessivo de fosfato.

Tabela 1. Exigências de teores de fósforo (kg/ ha) nas diferentes culturas

| Tipo de Cultura | | Exigência de fósforo (Kg/ha) |
|------------------------------|----------------|---|
| Cereais: | Arroz | 21 |
| | Aveia | 17 |
| | Cevada | 12 |
| | Milho | 35 |
| | Trigo | 22 |
| Produtoras de açúcar: | Beterraba | 24 |
| | Cana-de-açúcar | 8 |
| | Batata-doce | 41 |
| Produtoras de amido: | Batatinha | 8 |
| | Mandioca | 28 |
| Produtoras de fibras: | Algodoeiro | 8,1 |
| | Juta | 25 |
| Leguminosas: | Amendoim | 31 |
| | Feijoeiro | 9 |
| | Soja | 40 |
| Hortaliças: | Alho | 14 |
| | Cebola | 22 |
| | Couve-flor | 9 |
| | Repolho | 31 |

| | | |
|----------------------|-------------|----|
| Hortaliças: | Aipo | 82 |
| | Alface | 5 |
| | Berinjela | 10 |
| | Pepino | 14 |
| | Pimentão | 12 |
| | Tomateiro | 21 |
| | Quiabeiro | 5 |
| | Ervilhas | 8 |
| | Cenoura | 16 |
| | Nabo | 11 |
| | Vagens | 3 |
| Oleaginosas: | Coqueiro | 16 |
| | Dendezeiro | 10 |
| | Mamoneira | 8 |
| | Oliveira | 8 |
| Estimulantes: | Cacaueiro | 6 |
| | Cafeeiro | 19 |
| | Chá | 19 |
| | Fumo | 8 |
| Frutíferas: | Abacateiro | 3 |
| | Laranjeira | 24 |
| | Limoeiro | 21 |
| | Macieira | 15 |
| | Pereira | 24 |
| | Pessequeiro | 7 |
| Florestais: | Eucalipto | 6 |
| | P. ellioti | 1 |

| | | |
|---------------------------|-------------|----|
| Culturas diversas: | Abacaxi | 30 |
| | Banana | 69 |
| | Seringueira | 5 |
| | Videira | 9 |
| | Gramíneas | 47 |
| | Alfafa | 16 |
| | Trevo | 13 |

1.3 Fertilizantes

Fertilizantes ou adubos visam o suprimento das deficiências em substâncias vitais à sobrevivência dos vegetais. São, portanto aplicados nas áreas agriculturáveis com o intuito de aumentar a produção. Podem ser aplicados através das folhas (pulverização manual ou mecanizada ou ainda via irrigação) ou através do solo. Antes de se aplicar qualquer tipo de fertilizante ou corretivo, deve-se antes fazer uma análise química do solo para que não se empregue quantidades incorretas de fertilizantes, podendo acarretar perdas na produtividade com o uso desbalanceado dos nutrientes (excessos e faltas de nutrientes podem deixar a planta muito suscetível a doenças).

Os fertilizantes foliares são normalmente diluídos em água e pulverizados diretamente sobre as plantas. É o tipo de fertilizante mais recomendado quando se deseja um efeito imediato, em plantas muito subnutridas⁶.

Com o desenvolvimento científico e industrial, surgiram os fertilizantes sintéticos, os quais são substâncias e/ou produtos que contém em sua formulação todos os nutrientes imprescindíveis (macro e micronutrientes) para o crescimento saudável da planta e para obter altas produtividades, imprescindíveis às necessidades agrícolas.

1.3.1 Fosfato em fertilizantes

A utilização de adubos fosfatados teve seu início em meados do século XIX, quando o homem percebeu que a adição de fósforo às plantas era um excelente meio para auxiliar na produção agrícola. Nessa época as principais fontes de fósforo utilizadas eram os ossos moídos, formados basicamente de fosfato de cálcio e hidroxiapatita⁷.

As rochas fosfáticas contendo apatitas (fosfato tricálcio) são as principais fontes naturais de fósforo existente na natureza. Mas, para que o fósforo contido neste material torne-se disponível aos vegetais, é necessário modificar a estrutura apatítica original. Tal liberação pode ser feita por via úmida, liberando fósforo para aplicações posteriores. No caso da via úmida a rocha fosfática é inicialmente misturada com ácidos inorgânicos, principalmente o ácido sulfúrico, dando origem ao ácido fosfórico e a partir dele, pode-se produzir os superfosfatos triplos e os fosfatos de amônio (fosfato de monoamônio – MAP e fosfato de diamônio - DAP). A via seca utiliza-se como rota de solubilização das rochas fosfáticas o tratamento térmico⁷.

De modo geral a fonte de fósforo tem sido o ácido fosfórico nos fertilizantes fosfatados⁸. Os altos investimentos iniciais com a adubação fosfatada têm dificultado a exploração efetiva do potencial do solo, pois a correção da deficiência de fósforo se faz normalmente pela aplicação de fosfatos altamente solúveis, como são os superfosfatos e os fosfatos de amônio. Esses adubos, ao se dissolverem em água, transformam-se em ácido fosfórico (H_3PO_4) e fosfato ácido de cálcio ($CaHPO_4$). Essa solução ácida que se forma no solo exerce um efeito marcante na disponibilidade de fósforo para as plantas, uma vez que o H_3PO_4 produzido concorre para a dissolução dos óxidos de Fe, Al e Mn, acelerando o processo de fixação de fósforo⁹. Desta forma, a disponibilidade de fósforo na forma de fosfato é menor, porque esta molécula é facilmente imobilizada no solo e na superfície das folhas.

1.3.2 Fosfito em fertilizantes

Nos últimos anos houve um aumento significativo no consumo de fertilizantes e defensivos agrícolas (CONAB Apud Neves)¹⁰. Neste segmento de

¹insumos, alguns produtos comerciais contendo fosfito em suas formulações vêm sendo utilizados em alguns setores da agricultura como alternativa ao fosfato^{11, 12}. Os produtos à base de fosfito são derivados do ácido fosforoso, normalmente são sais de sódio ou potássio, preferencialmente.

O uso recente de produtos à base de fosfito nas atividades agrícolas brasileiras tem aumentado significativamente em função da busca por aumento tanto da produtividade como da qualidade do produto final^{12,13}.

Entre os principais motivos da utilização de fosfitos está a absorção mais rápida de fósforo pela planta em relação aos produtos à base de fosfato, o baixo custo relativo da matéria-prima, melhoria no balanço nutricional das plantas, aumento na qualidade do fruto, melhoria no amadurecimento dos frutos, aumento na produtividade, aumento do tempo de conservação do produto no pós-colheita, reduzindo perdas e custos com refrigeração³, e por fim, cita-se o aproveitamento do fósforo como elemento de nutrição mineral de plantas após a ação fungicida do fosfito¹³. Portanto, a determinação de fosfito em produtos agroindustriais é importante não apenas do ponto de vista acadêmico, mas também do social e econômico: dispondo-se de um controle de qualidade eficaz há grandes chances de gerar maior confiança em toda a cadeia consumidora.

1.4 Analisadores em fluxo e análise por injeção em fluxo

Durante as primeiras décadas do século XX, houve a descoberta de novas reações químicas e bioquímicas e, portanto, surgiu a necessidade do conhecimento destas reações, como estudos envolvendo velocidade reacional, formação de subprodutos ou intermediários e as condições favoráveis para o desenvolvimento da reação. Foram todos estes aspectos desconhecidos naquela época que resultaram no crescente desenvolvimento do estudo da velocidade de reação através da automação e manipulação de soluções de reagentes e da amostra, baseados na câmara de mistura de Hartridge e Roughton¹⁴ em 1923 para uma reação de neutralização ácido-base (HCl + NaOH). Foram desenvolvidos novos sistemas de fluxo constante, utilizando seringas

10 Companhia Nacional de Abastecimento: Indicadores da Agropecuária. Disponível em: www.conab.gov.br

para a propulsão das soluções. Em um motor de passo as seringas eram ligadas e realizavam o bombeamento das soluções até um ponto de confluência onde ocorria a mistura de amostra e reagentes e posteriormente seguia para o espectrofotômetro para o registro do sinal analítico¹⁵.

A evolução dos sistemas de fluxo continuou e, como era necessária a obtenção dos sinais analíticos com alta resolução, foram feitas mudanças que aprimoraram o detector espectrofotométrico e deram origem a equipamentos envolvendo a parada do fluxo ou “stopped flow”, utilizados para monitorar reações que ocorriam muito rápido¹⁶. Essa nova estratégia consistia em parar o fluxo dentro da cela de fluxo do espectrofotômetro, minimizando problemas com bolhas de ar. Com o aumento no controle das análises químicas em laboratórios de análise clínica, os analisadores em fluxo passaram a ser gerenciadores de soluções para melhorar a automação analítica, evitando erros analíticos, manipulando amostras e reagentes para ter maior rapidez nas análises.

Com essa nova proposta, vários trabalhos foram feitos e Skeegs, em 1949, introduziu pela primeira vez um sistema contínuo para o processo de diálise¹⁷. Uma de suas tentativas consistia na inserção de bolhas de ar no fluxo, que tinha como função separar a amostra, a qual era transportada para a membrana de diálise onde ocorria a permeação de uréia e separação do analito que era transportado para ser misturado com os reagentes e seguir para o espectrofotômetro¹⁸. Como era inserido um fluxo de ar no percurso analítico, houve a necessidade de componentes como desborbulhador, para que houvesse pouca dispersão da zona da amostra, que era controlada pela vazão e pelo percurso analítico. O sistema proposto por Skeegs utilizava uma bomba peristáltica com vários canais para bombear as soluções e se consagrou como o Autoanalisador comercializado pela Technicon¹⁷, pois possuía boa repetibilidade, rapidez nas análises (40 amostras por hora) com resultados confiáveis. Portanto, os autoanalisadores após passarem por muitas avaliações, foram adquiridos em laboratórios de análises clínicas¹⁹.

Mesmo com as características benéficas do fluxo segmentado de Skeegs, nos estudos envolvendo cinética de reação, não poderia haver a inserção de bolhas de ar, devido o controle no monitoramento da reação. Assim, em 1962, Blaedel e Hicks²⁰

propuseram um sistema de análise de fluxo contínuo para determinação de glicose. O sistema compreendia uma bomba peristáltica que bombeava a amostra a uma vazão constante até um ponto de confluência onde encontrava o reagente que era introduzido no sistema por gravidade. A vazão era mantida constante tanto para amostra como para reagente ($2,0 \text{ mL min}^{-1}$), indicando que ambos eram bombeados a volume “infinito”²¹, ou seja, não possuía fluxo segmentado como no sistema de Skeegs. Porém, um fluxo laminar era estabelecido e prejudicava a mistura entre amostra e reagente resultando num sistema com baixa frequência analítica. Por isso, a introdução de um acessório descrito como “pulser” se tornou necessário, pois proporcionava oscilações periódicas estabelecendo um fluxo reverso. Dessa forma, foi possível determinar glicose até 60 mg L^{-1} em solução aquosa, com frequência analítica de 15 amostras por hora.

Visando melhorar as análises químicas de modo que houvesse minimização na manipulação dos reagentes pelo analista, diminuição de contaminação das amostras e aumento na rapidez das análises, os analisadores em fluxo abriram novos caminhos para que Ruzicka e Hansen²² em 1975 propusessem os sistemas de análises por injeção em fluxo. Neste sistema, através de uma seringa, uma alíquota de amostra era inserida no fluxo transportador e os reagentes eram inseridos continuamente por bomba peristáltica a vazão constante em pontos de confluência, onde ocorria a mistura reagentes – amostra, a qual era bombeada até o detector permitindo a aquisição de um sinal transiente. A versatilidade do sistema pôde ser observada pela determinação potenciométrica de amônio e espectrofotométrica de fosfato, sendo que ambos os sistemas apresentaram linearidade satisfatória, seguindo a equação de Nerst para potenciometria e a lei de Beer para espectrofotometria; os sistemas também apresentaram repetibilidade nas análises e rapidez (60 amostras/hora para amônio e 200–250 amostras/hora para fosfato). Sendo assim, estas características conduziram para o estabelecimento do fluxo constante, ou seja, ausência do fluxo segmentado por meio de bolhas de ar. Por isso, os sistemas de análises por injeção em fluxo foram caracterizados pela simplicidade na automação e sendo cada vez mais utilizados.

Estes sistemas de análise por injeção em fluxo são capazes de gerenciar soluções, detecção, etapas de separação, dispersão, tempos de residência da amostra,

adição de reagentes, etc²³. Vários componentes dos analisadores em fluxo (amostradores²⁴, filtros²⁵, reatores²⁶, pontos de adição de reagentes²⁷, colunas de troca-iônica²⁸, detectores ópticos²⁹ e eletroquímicos³⁰, pontos de atuação da bomba peristáltica³¹) podem ser deslocados de sua posição original até outra previamente selecionada do percurso analítico mediante comutação³². Estas opções de automação proporcionam a utilização de diversas metodologias analíticas, que estão em número cada vez maior na literatura. Como os sistemas de injeção em fluxo são eficientes gerenciadores de soluções, alguns dos problemas típicos associados ao preparo manual de amostras (ex.: possibilidade de contaminação e perdas de amostra decorrentes da manipulação excessiva, tempo total gasto normalmente longo, consumo demasiado de reagentes, riscos de acidentes, etc.) podem ser reduzidos, ou até mesmo eliminados, adotando-se o procedimento de preparação da amostra em linha^{33,34}.

O processo de análise química por injeção em fluxo tem como conceito básico a inserção de uma alíquota de amostra (pré-tratada ou não) em um fluido transportador que a transporta do ponto de injeção até a unidade de detecção. Durante o transporte vários processos físico-químicos podem ocorrer, como diluição, reação química, dispersão, pré-concentração, precipitação, destilação, etc. Esse processo foi introduzido no Brasil em 1976 por pesquisadores do CENA/USP^{35,36}.

O mais simples diagrama de fluxos é o de linha única, onde o fluido transportador é o reagente. As análises que utilizam esta configuração, a mistura da amostra com o reagente ocorre exclusivamente por dispersão, enquanto a mesma é transportada em direção ao detector. A dispersão pode afetar a magnitude do sinal analítico. Quando a razão entre os volumes da alíquota da amostra e do percurso analítico é inadequada, o reagente pode não alcançar o centro da amostra, em quantidade suficiente para satisfazer as condições para o desenvolvimento das reações químicas envolvidas. Esta limitação foi superada projetando-se o diagrama de fluxo para adição dos reagentes por confluência e empregando-se uma solução quimicamente inerte como transportador da amostra. Quando os reagentes são adicionados por confluência, cada fração da amostra recebe a mesma quantidade do reagente, portanto não se formam gradientes de concentração de reagentes dentro do percurso analítico³⁷. Para a descrição do sistema, em geral, o processo de análise

química por injeção em fluxo pode ser dividido em quatro partes: propulsão de fluidos, injeção da amostra, reação e detecção.

A propulsão de fluidos pode ser à pressão constante, sendo empregado dispositivos de ação gravitacional³⁷. Quando a análise é feita à vazão constante os meios mais empregados para movimentar o fluido transportador é via bomba peristáltica³⁷ e seringas^{15, 20}.

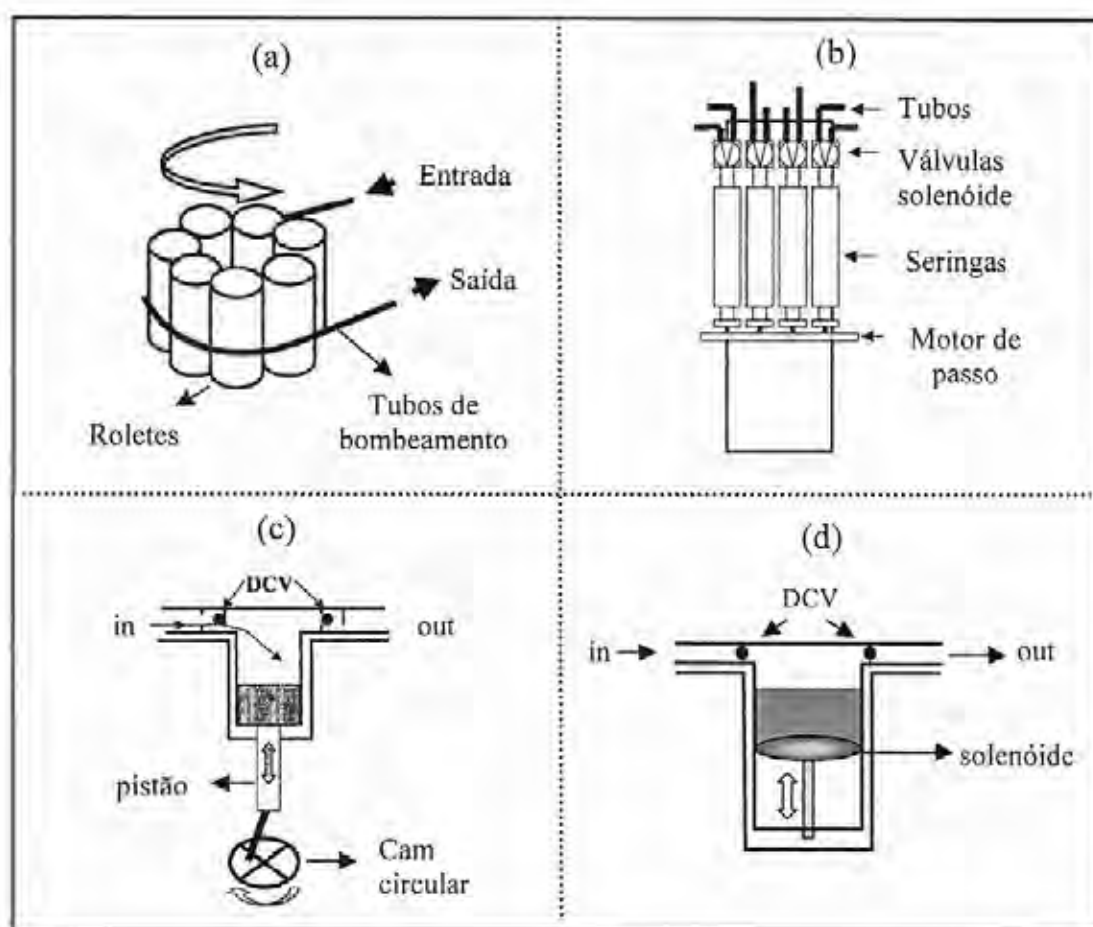
Para os sistemas de análise por injeção em fluxo, a bomba peristáltica com multi-roletes (Quadro 1, a)³⁸ foi consagrada como unidade propulsora de fluidos, pois pode bombear simultânea e continuamente as soluções acomodando diferentes canais com diversos diâmetros internos e de vários materiais para bombear diferentes reagentes. Quando acoplada a um microcomputador, pode parar o fluxo, invertê-lo ou até mesmo variar a vazão³⁹.

Quando as unidades propulsoras utilizadas para impulsionar o fluido são as seringas (Quadro 1, b)³⁸, estas proporcionam fluxo constante com mínimas oscilações. Quando acopladas a um motor de passo comandado por um programa computacional são muito utilizadas nos sistemas de multi-comutação⁴⁰.

Também existe a bomba pistão (Quadro 1, c)³⁸, ou seringa pistão, que possui em seu interior um pistão e um pente circular que quando acionados aspiram as soluções pela entrada (in) por um volume fixo, e depois bombeia para a saída (out). O controle da entrada e saída dos líquidos é feito pela DCV (directional check-valves)³⁹.

Outros tipos de propulsor de fluidos utilizados para impulsionar soluções são as bombas solenóides (Quadro 1, d)³⁸ que apresentam as mesmas características de bombeamento que as bombas pistão, inclusive em relação ao fluxo que também é pulsante quando o volume interno da bomba é muito pequeno^{41, 42}.

Com a necessidade em análises ambientais de se transportar os equipamentos para determinações *in situ*, menores unidades propulsoras eram necessárias. Assim, em 1996 Weeks e Johnson⁴³ propuseram um sistema de análise em fluxo que envolvia bomba solenóide pequena, portátil, robusta, que podem ser controladas individualmente, consumindo menos energia. Atualmente, trabalhos mais recentes envolvem como unidades propulsoras de fluidos as mini-válvulas pizeoelétricas⁴⁴.



Quadro 1. Unidades propulsoras empregadas nos sistemas de análises em fluxo. (a) bomba peristáltica (Prados-Rosales et al., 2002); (b) seringas (Miro et al., 2002); (c) bomba pistão (Prados-Rosales et al., 2002) onde DCV = directional check valves, in e out = entrada e saída da solução, respectivamente; (d) bomba solenóide, legendas idem (c).

O injetor é o dispositivo fundamental do sistema de análise química por injeção em fluxo, pois introduz a amostra no percurso analítico. O primeiro injetor utilizado foi a seringa, pois no sistema de análise por injeção em fluxo implementado por Ruzicka e Hansen²² foi este o dispositivo que eles utilizaram para inserir a amostra no percurso analítico, que é o espaço por onde o fluido transportador transporta a amostra para o detector, é onde ocorrem as reações químicas necessárias à detecção da espécie de interesse. Assim, o dimensionamento do mesmo deve levar em conta o tempo de residência da amostra e, portanto, as vazões do transportador e dos reagentes.

Hoje, existem vários tipos de injetores apresentados na literatura, sendo os mais comuns: válvula rotatória de 3 ou de 6 portas, utilizadas em cromatografia, o injetor-comutador proporcional³⁷ desenvolvido pelos pesquisadores do CENA/USP e válvulas solenóides⁴⁶ (Fig. 1).

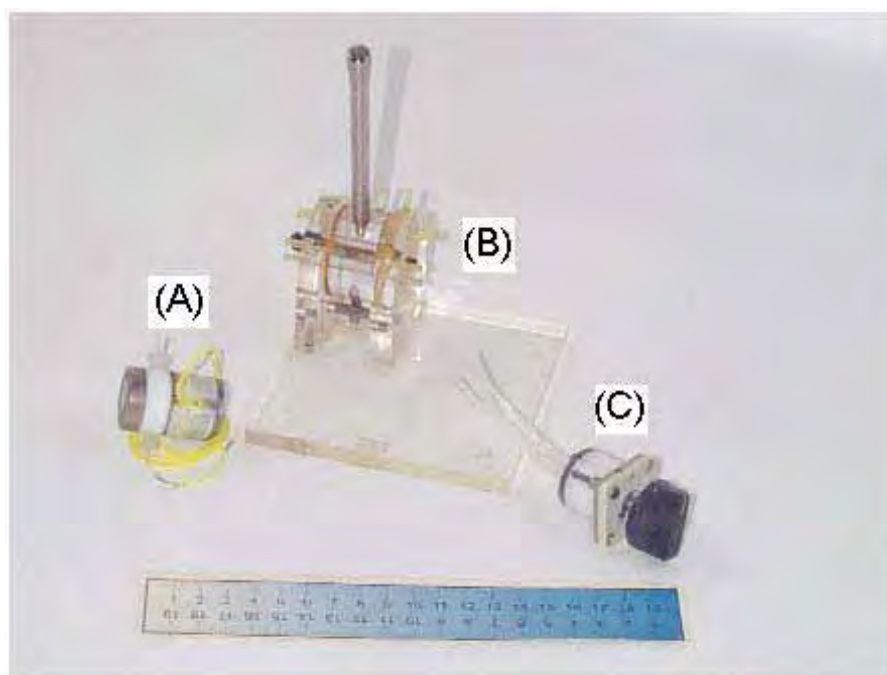


Figura 1. Válvula solenóide (A); injetor-comutador proporcional (B) e válvula de 6 portas (C).

A análise por injeção em fluxo está sendo aceita e adotada cada vez mais pelos laboratórios de pesquisa e indústrias de todo o mundo, contribuindo significativamente para a superação de um dos grandes desafios da humanidade: alcançar um equilíbrio entre desenvolvimento e preservação do meio ambiente. A filosofia mais moderna procura diminuir a poluição através da minimização dos resíduos, ao invés de tratar o efluente gerado procura-se evitar sua geração^{47,48}.

Com as mudanças nas análises químicas e com os avanços tecnológicos, houve a necessidade de aprimorar os sistemas de análises em fluxo. Sendo assim, Ruzicka e Marshall⁴⁹ em 1990 adaptaram o sistema de análise por injeção em fluxo seqüencial, ou seja, não havia o bombeamento contínuo da solução. Esse novo sistema proporcionou o controle da reação através de uma válvula seletora multi-portas, possuindo vias seletoras independentes que eram acionadas por um computador. As

alíquotas das soluções eram aspiradas para uma bobina de retenção e depois que era formada a zona de amostra, o sentido da unidade propulsora era invertido formando um fluxo reverso e a mistura era levada para a bobina de reação e, posteriormente, para o detector. O fluxo reverso possibilitava principalmente o controle da dispersão, minimizava a geração de resíduos e facilitava a operação das etapas num único programa computacional⁵⁰.

A chegada dos microcomputadores nos laboratórios para análises químicas proporcionou o desenvolvimento de sistemas envolvendo multi-comutação⁴⁶, que consistia em diversas válvulas solenóides para direcionar as soluções. Por uma bomba peristáltica os reagentes e amostras eram propulsionados até as válvulas, as quais direcionavam uma alíquota de reagente ou amostra, conforme a abertura da válvula e a vazão de bombeamento, e logo após a mistura era encaminhada ao detector.

Portanto, para promover fluxo constante, outras unidades propulsoras foram exploradas, como seringas implementadas em um analisador resultando no sistema multi-seringas^{51,52}. As seringas eram colocadas para cada solução de interesse, sendo as soluções inseridas no percurso analítico pelo tempo de bombeamento e volume da seringa. Para o preenchimento da seringa e para direcionar as alíquotas de amostras e reagentes, válvulas solenóides eram empregadas na saída de cada seringa.

Sistemas como Lab-on-chip, Lab-on-valve, Lab-at-valve que realizam as tarefas analíticas em chips ou em pequenos suportes, envolvem o conceito de microfluídica^{53,54}. Mas, as condições destes sistemas tiveram que ser melhoradas por geometrias que forçassem uma mistura mais rápida⁵⁵, pois os canais eram muito reduzidos. Portanto, Chapin e Wanty⁵⁶ em 2005 propuseram que estes sistemas tivessem novas unidades propulsoras de fluido.

Portanto, diferentes condições fluidicas foram exploradas principalmente relativas ao fluxo constante, sendo exploradas nos sistemas de análise em fluxo, como as bombas solenóides que promovem fluxo pulsante⁵⁷. O analisador que explorava estas bombas foi denominado de multi-impulsão (do inglês "multi-pumping"), onde as análises empregavam diversas bombas para a propulsão individual das soluções⁴².

Após o sistema de análise por injeção em fluxo implementado por Ruzicka e Hansen²² todas as vertentes para as análises possuíam um mesmo conceito e objetivo:

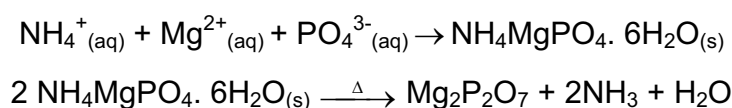
o condicionamento de reações químicas em tubos não compressíveis de diâmetro reduzido que continha regime de escoamento, vazão e fluxo formados. Assim, a evolução dos analisadores em fluxo caminha para o desenvolvimento de sistemas simples, de baixo custo e com pouca manutenção.

2. REVISÃO DA LITERATURA

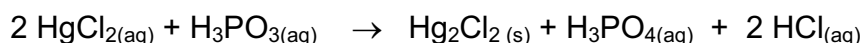
2.1 Determinação de fosfito

As técnicas analíticas normalmente empregadas para determinação de fosfito são: gravimetria^{58,59}, métodos eletroquímicos⁶⁰⁻⁶⁵, cromatografia⁶⁶⁻⁷², titrimetria⁷³ e espectrofotometria^{71,74,75,76}.

A gravimetria⁵⁸ é a técnica mais difundida para determinação de fosfito (fósforo) descrita na literatura. Dos métodos descritos, um se baseia na precipitação de fosfato sob a forma de $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e determinado como pirofosfato de magnésio⁷⁷ conforme a reação que segue:



e o outro é baseado na formação de $\text{Hg}_2\text{Cl}_2_{(\text{s})}$ ⁷⁷ conforme equação química abaixo representando a reação de oxidação e precipitação:



A vantagem deste último método sobre o primeiro reside na possibilidade de empregar a amostra sem qualquer tratamento prévio. Por outro lado, este método apresenta como inconveniente a produção de quantidades relativamente grandes de resíduo de mercúrio. Isto contraria a tendência atual de se evitar o uso de métodos que utilizem reagentes que resultem em rejeitos de difícil descarte no ambiente⁷⁸. Com relação ao primeiro método, para que fosfato seja precipitado como sal duplo de magnésio e amônio, o fosfito deve ser previamente convertido a fosfato. O procedimento convencional baseia-se na digestão da amostra em meio de ácido nítrico ou sulfúrico concentrados por períodos relativamente longos.

Trasatti e Alberti⁶³ fizeram um estudo eletroquímico de mecanismo de oxidação de ácidos hipofosforoso e fosforoso em eletrodos de paládio e constataram que nesse processo havia possibilidade de oxidação de fosfito em superfície de paládio.

De acordo com os autores seria então possível determinar fosfito com eletrodo modificado via amperometria.

Biesaga e Trojanowicz⁶⁶ utilizaram a técnica cromatográfica de íons para determinar simultaneamente hipofosfito, fosfito e ortofosfato presentes em banhos eletrolíticos para níquel. Utilizando esta mesma técnica, Roos⁶⁷ *et al.* determinaram fosfito em amostras de plantas. Os autores afirmam que há praticidade no preparo de amostra e confiabilidade nas análises, sendo um processo simples para determinar fosfito e fosfato.

Ito⁷⁵ *et al.* desenvolveram um sistema de análise por injeção em fluxo com preparação da amostra em linha para determinar fosfito em fertilizantes por espectrofotometria utilizando o método Azul de Molibdênio. Vale salientar que quando as determinações de fosfito são realizadas por espectrofotometria os métodos descritos na literatura utilizam os reagentes azul de fosfomolibdênio - PMB (Método do Azul de Molibdênio) e ácido molibdovanadofosfórico - MVP (Método do Amarelo de Molibdênio)⁷⁴, sendo necessária a oxidação do fosfito a fosfato, pois somente ortofosfatos formam o heteropoliácido molibdofosfórico⁷⁴ (complexo de coloração amarela) e depois sofrem redução formando o azul de fosfomolibdênio⁷⁹. Diversos agentes redutores, tais como o ácido ascórbico, cloreto estanhoso e hidrazina têm sido empregados, os quais apresentam condições reacionais bem distintas, principalmente em suas cinéticas reacionais, sensibilidade analítica e seletividade⁸⁰. O método desenvolvido por Ito⁷⁵ *et al.* se mostrou eficiente no processo que envolve o preparo de amostra em linha para determinação de fosfito, mas apresentou o inconveniente da substituição manual da solução oxidante pela solução de ácido sulfúrico.

Quattrocchi⁶⁸ *et al.* desenvolveram um método cromatográfico em coluna acoplado ao UV, utilizando como fase móvel ácido nítrico para determinação de fosfito, fosfato, cloreto, ácido metanosulfônico em olpadronato sódico (ácido 3-dimetilamina-1-hidróxi-propileno-bisfosfônico). De acordo com os autores, o método foi eficiente, simples, preciso, exato e robusto, sendo validado de acordo com as normas ICH (International Conference Harmonization) para testar a pureza e a potencialidade de materiais de olpadronato.

Ito⁶⁴ *et al.* considerando a possibilidade de oxidação de fosfito em superfície de paládio, propuseram um eletrodo metálico de platina recoberto com paládio como sensor para a determinação de fosfito⁶³ em fertilizantes. De acordo com os autores, apesar do método ser fortemente promissor na determinação quantitativa de fosfito em amostras de fertilizantes, visto apresentar seletividade a esta espécie, o filme de paládio, preparado na superfície do eletrodo rotatório de Pt por eletrodeposição foi pouco aderente e de difícil reprodução.

Morton⁶⁹ *et al.* propuseram a técnica cromatografia de íons acoplada a espectrometria de emissão atômica em plasma acoplado indutivamente para detectar hipofosfito, fosfito, ácido metilfosfônico e fosfato em amostras ambientais. Os autores afirmam que a técnica é promissora para avaliar fosfito presente no solo.

Dopico-Garcia⁷⁰ *et al.* empregaram extração fase sólida e a técnica cromatografia líquida para determinar anti-oxidantes fenólicos e um fosfito anti-oxidante em alimentos. A técnica apresentou intervalo de recuperação de 78 a 104% e o limite de quantificação foi 0,24 mg L⁻¹.

Hanrahan⁷¹ *et al.* utilizaram diferentes técnicas para determinar fosfito em amostras ambientais. As técnicas utilizadas foram: análise por injeção em fluxo espectrofotométrica utilizando o método Azul de Molibdênio, cromatografia de íons, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Os autores relatam que amostras de água foram analisadas por cromatografia de íons, sendo o limite de detecção 0,39 µmol L⁻¹; quando utilizaram cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e cromatografia de íons para analisar amostras de plantas, o limite de detecção foi 100 pg e 100 ng, respectivamente. Para amostras de plantas analisadas por injeção em fluxo espectrofotométrica o limite de detecção foi 3 mg L⁻¹.

Franzini⁷³ *et al.* desenvolveram um método titulométrico para determinar fosfito em amostras de fertilizantes, onde solução de iodo oxida fosfito a fosfato. O tempo para realizar o procedimento é cerca de 10 minutos, consumindo 127 mg de iodo e 200 mg de iodeto de potássio. Os resultados foram comparados com a técnica espectrofotométrica, sendo concordantes ao nível de 95% de confiança. De acordo com os autores o método é muito eficiente, prático e de baixo custo relativo, porém sua limitação é a interferência de íons carbonato.

Schoetter⁷² *et al.* empregaram cromatografia de íon para determinar simultaneamente fosfito e fosfato em plantas de milho. Os autores constataram que fosfito não estava disponível às plantas como fonte de fósforo.

Barco⁷⁶ *et al.* desenvolveram métodos espectrofotométricos para determinar fosfito em amostras de água. No primeiro, o fosfito é oxidado a fosfato por uma solução de tri-iodeto + penta-iodeto e o excesso desta solução reagia com goma de amilose para formar um complexo azul. O segundo método envolvia análise por injeção em fluxo com preparo de amostra em linha utilizando o método Azul de Molibdênio. De acordo com os autores, os métodos foram eficientes para determinação de fosfito apresentando limites de detecção 0,7 e 0,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

O trabalho mais recente foi apresentado por Franzini⁶⁵ *et al.* Os autores empregaram análise por injeção em fluxo com preparo de amostra em linha e detecção amperométrica envolvendo eletrodo modificado com filme metálico à base de paládio e platina para determinar fosfito em amostras de fertilizantes. Nesse método, o fosfito é oxidado a fosfato sobre a superfície de paládio/platina e o sinal transiente de absorvância é registrado na forma de um pico, cuja altura é proporcional ao teor de fosfito na amostra. A análise consome 67 μL de amostra e a vida útil do eletrodo equivale a 220 determinações. O método desenvolvido foi eficiente para determinação de fosfito em amostras de fertilizantes, sendo a sensibilidade amperométrica 1,5 mA L mol^{-1} e o limite de detecção $4,8 \cdot 10^{-4} \text{ mol}^{-1}$. A precisão e exatidão do método foram também avaliadas pelo teste de adição e recuperação de padrão e o intervalo de recuperação foi de 96 a 109%.

3. PROPOSTA DE TRABALHO

O principal objetivo deste trabalho foi desenvolver um método analítico automatizado para a determinação espectrofotométrica de fosfito e fosfato em fertilizantes líquidos empregando sistema de injeção em fluxo.

Objetivos específicos:

- avaliar a potencialidade de determinação seqüencial de fosfito e fosfato em sistema FIA empregando adição intermitente de reagente.
- aplicar o método a ser desenvolvido a amostras comerciais de fertilizantes líquidos.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Materiais

4.1.1 Instrumentos e acessórios

O sistema FIA espectrofotométrico empregou um espectrofotômetro Femto, Modelo 482, uma bomba peristáltica Ismatec, Modelo IPC – 8, tubos de bombeamento de Tygon[®], tubos de polietileno de 0,8 mm de diâmetro interno para a construção da alça de amostragem, bobinas de homogeneização e de reação, linhas de transmissão e conectores e um injetor-comutador proporcional, sistema de aquisição de dados Microquímica MQI 96 compreendendo microcomputador PC 386 e placa conversora A/D.

4.1.2 Reagentes, soluções e amostras

Todas as soluções foram preparadas com água purificada pelos sistemas de osmose reversa Rios 5 e desionizador Milli-Q academic, ambos Millipore.

Solução $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4$ (Mallinckrodt, Estados Unidos) + $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (R₁, Fig. 4) preparada diariamente dissolvendo-se 159 mg KMnO_4 em aproximadamente 80 mL de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido sulfúrico (Merck, Alemanha), sendo o volume completado até 100 mL com a mesma solução ácida para posterior determinação indireta do fósforo pelo método espectrofotométrico do Azul de Molibdênio.

Solução 5% (m/v) $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Alemanha) + $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (R₂, Fig. 4) também preparada diariamente pela dissolução de 5,0 g do sal tetra hidratado em aproximadamente 60 mL de $\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$, sendo transferida para balão de 100 ml e avolumado até o menisco com a solução $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$.

Solução 1% (m/v) de ácido ascórbico (Mallinckrodt, Estados Unidos) (R₃, Fig. 4) preparada diariamente dissolvendo-se 1,0 g $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ em aproximadamente 60 mL de água, transferência feita para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado até o menisco com água.

Solução $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (Merck, Alemanha) (R_4 , Fig. 4) foi preparado por diluição apropriada do ácido concentrado, sendo a densidade $1,84 \text{ g mL}^{-1}$ e o título 98,5% (m/m).

Soluções analíticas contendo fosfito foram preparadas diariamente dissolvendo-se 2,634 g do sal $\text{Na}_2\text{HPO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Riedel-de Haën, Alemanha) em 60 mL, sendo transferida para balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado até o menisco com água. As soluções analíticas de fosfito (0,05 – 0,40% m/v H_3PO_3) foram preparadas por diluição apropriada a partir da solução estoque.

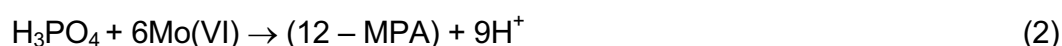
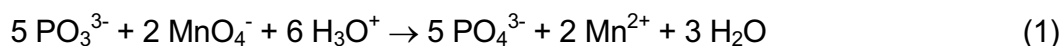
As soluções analíticas contendo fosfato ($1,0 \cdot 10^{-4}$ – $250,0 \cdot 10^{-4}$ % m/v P- PO_4) foram preparadas a partir de diluição apropriada da solução estoque 0,1% (m/v) em fósforo preparada dissolvendo-se 4,584 g do sal $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Mallinckrodt, Estados Unidos) em aproximadamente 600 mL, a transferência foi feita para balão volumétrico de 1000 mL e o volume foi completado até o menisco com água.

As amostras de fertilizantes foram fornecidas pela Indústria e Comércio Samaritá Ltda (Artur Nogueira – SP) e foram preparadas da seguinte maneira: pesou-se 2 g com precisão de décimo de miligrama, transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e o volume foi completado até o menisco com água desionizada. As amostras foram processadas no sistema FIA sem qualquer tratamento prévio.

4.2 Método

Nos sistemas de injeção em fluxo espectrofotométrico as soluções das amostras e dos reagentes foram aspiradas com auxílio de bomba peristáltica e foram misturadas em pontos específicos do sistema que foram definidos oportunamente. O sistema empregou o injetor-comutador, que consiste de três peças de acrílico, sendo duas fixas e uma móvel, a peça central pode ser deslocada em relação às laterais e é por meio deste movimento que o injetor coleta a amostra e a insere no percurso analítico³⁷. Alíquotas de amostra são selecionadas por meio de alça de amostragem e injetadas numa solução transportadora que é responsável por promover a dispersão e misturar a amostra com os reagentes R_1 , R_2 e R_3 do método Azul de Molibdênio.

O pré-requisito para a utilização desse método é a oxidação de fosfito a fosfato antes da determinação (reação 1), pois somente ortofosfatos reagem com molibdênio⁷⁶ para formar o heteropoliácido (ácido molibdofosfórico - MPA) como mostrado na reação 2:



Em presença do ácido ascórbico o composto é reduzido e forma o azul de fosfomolibdênio (PMB), conforme a reação 3:



O estudo relativo ao desenvolvimento de método para a determinação espectrofotométrica em fluxo de fosfito e fosfato envolveu seqüencialmente duas etapas distintas:

1^a - Avaliação do sistema FIA publicado e proposto por Ito e colaboradores⁷⁵ para determinação de fosfito apenas. Para determinar fosfito e fosfato seqüencialmente com este sistema, duas calibrações independentes são necessárias, e mesmo assim há a necessidade de troca manual do reagente oxidante por outra solução de ácido.

2^a - Desenvolvimento de um sistema FIA original que pudesse determinar seqüencialmente fosfito e fosfato sem a troca manual de reagentes.

Assim, para a determinação de fósforo, estudou-se três sistemas de injeção em fluxo que estão descritos e representados abaixo.

4.2.1 Sistema FIA preliminar

4.2.1.1 Estudo da influência da concentração de permanganato de potássio

Para o sistema FIA representado na Fig. 2, o reagente R_1 (KMnO_4) oxida o fosfito presente na amostra antes desta preencher a alça de amostragem L. Nesse sistema, foram injetadas soluções analíticas no intervalo de 0 a 1,0% (m/v) H_3PO_3 para estudar a influência da concentração de permanganato de potássio ($5,0 \cdot 10^{-4}$ e $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ preparada em meio $2,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$).

Mediante comutação, o fosfito previamente oxidado é injetado na solução transportadora C e, por confluência, recebe os reagentes R_2 e R_3 para formar o complexo Azul de Molibdênio que, monitorado a 700 nm é registrado na forma de um pico cuja altura é proporcional ao teor fósforo na amostra (fosfito mais fosfato).

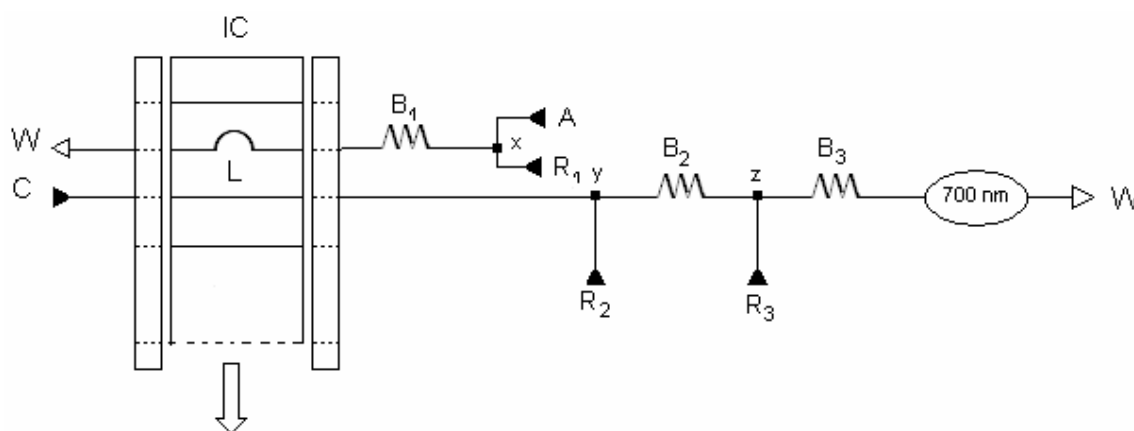


Figura 2. Diagrama de fluxos para determinação de fosfito. IC: injetador - comutador; L: alça de amostragem (100 μL); A: amostra ou solução analítica ($1,0 \text{ mL min}^{-1}$); R_1 : $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 + 2,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ ($1,0 \text{ mL min}^{-1}$) ou R_1 : $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 + 2,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ ($1,0 \text{ mL min}^{-1}$); R_2 : 5% (m/v) $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O} + 0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ ($0,9 \text{ mL min}^{-1}$); R_3 : 1% (m/v) de ácido ascórbico ($0,9 \text{ mL min}^{-1}$); C: $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ ($0,9 \text{ mL min}^{-1}$); B_1 , B_2 e B_3 : bobinas de reação e de mistura (10, 30 e 100 cm, respectivamente); x, y e z: pontos de confluência; W: frasco para coleta de resíduos. A seta indica o sentido de movimento de IC.

4.2.1.2 Influência da variação do comprimento da bobina de reação B₁

O tempo de reação entre permanganato de potássio e fosfito foi avaliado por meio da variação do comprimento da bobina de reação B₁, uma vez que o tempo de residência da mistura em B₁ depende das vazões de A e R₁ e do comprimento de B₁. Sendo assim, foi estudada a influência da variação do comprimento da bobina B₁ (10, 25, 50 e 100 cm) para o sistema FIA da Fig. 2. A concentração de permanganato de potássio utilizada foi $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ preparada em $2,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ e as soluções analíticas de fosfito injetadas foram 0; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0% (m/v) H_3PO_3 .

Outras variáveis como concentrações e ordem de adição dos reagentes R₂ e R₃, comprimento das bobinas de reação, B₂ e B₃ já foram avaliadas em trabalho anterior⁷⁵.

4.2.2 Sistema FIA com oxidação em linha

Para o sistema FIA da Fig. 3, uma alíquota da amostra é selecionada via alça de amostragem L. Após o movimento do injetor-comutador IC, a amostra é injetada num fluido transportador C. No ponto x o fosfito presente na amostra é oxidado e convertido parcialmente a fosfato pela solução de permanganato de potássio $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ preparada em ácido sulfúrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, a zona do analito recebe os reagentes molibdato de amônio 5,0% (m/v) preparado em ácido sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e solução de ácido ascórbico 1,0% (m/v) nos pontos de confluência y e z, respectivamente. O complexo formado é monitorado a 700 nm, cuja altura é proporcional ao teor de fósforo. Em presença de solução de KMnO_4 $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ + $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ o sinal transiente é proporcional ao teor de fosfito mais fosfato; quando o oxidante é substituído por solução $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ a altura do sinal transiente corresponde apenas ao teor de fosfato. Por diferença é possível calcular o teor de fosfito.

Este sistema foi utilizado para otimizar as condições experimentais e projetar um sistema FIA que pudesse determinar seqüencialmente fosfito e fosfato em amostras de fertilizantes sem a necessidade de substituir manualmente o reagente R₁.

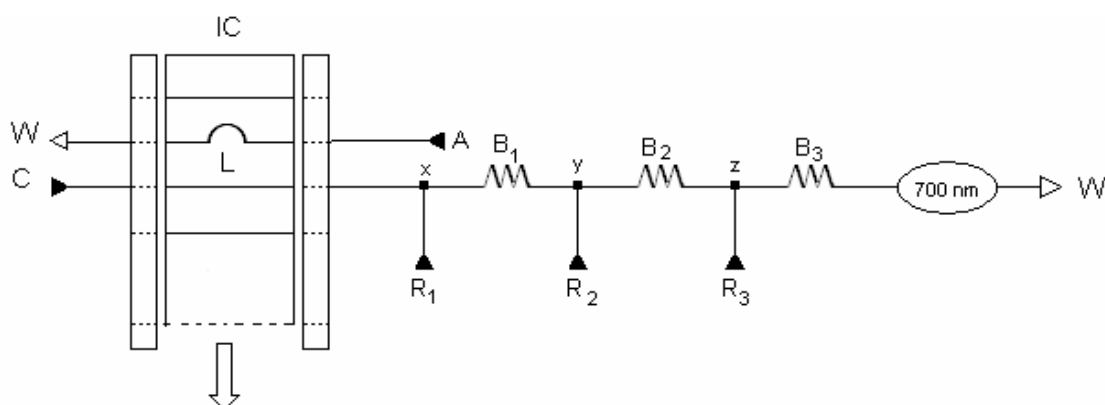


Figura 3. Diagrama de fluxos para determinação de fosfito. IC: injetor - comutador; L: alça de amostragem (100 μ L); A: amostra ou solução analítica (3,0 mL min^{-1}); R₁: 1,0 10^{-2} mol L⁻¹ KMnO₄ + 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (0,9 mL min^{-1}); R₂: 5% (m/v) (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O + 0,5 mol L⁻¹ H₂SO₄ (0,9 mL min^{-1}); R₃: 1% (m/v) de ácido ascórbico (0,9 mL min^{-1}); C: H₂O (0,9 mL min^{-1}); B₁, B₂ e B₃: bobinas de reação e de mistura (50, 30 e 100 cm, respectivamente); x, y e z: pontos de confluência; W: frasco para coleta de resíduos. A seta indica o sentido de movimento de IC.

4.2.2.1 Otimizando a determinação seqüencial

Para este estudo foram preparadas duas curvas analíticas com padrões de P-PO₄ no intervalo de 1,0 10^{-4} a 8,0 10^{-4} % (m/v) sendo que essas soluções analíticas foram injetadas na presença e na ausência de permanganato de potássio. O objetivo desse estudo foi avaliar se a reação de formação do complexo PMB aconteceria com a mesma eficiência em meio H₂SO₄ e em meio KMnO₄ + H₂SO₄, a fim de otimizar a determinação seqüencial de fosfito e fosfato. O desempenho do sistema FIA nesta etapa também foi avaliado por meio da injeção e registro de sinais transientes de soluções analíticas de fosfito no intervalo de 0,05% a 0,40% (m/v) H₃PO₃.

4.2.2.2 Estudo da conversão de fosfito a fosfato

Fez-se um experimento para saber a porcentagem de conversão de fosfito a fosfato pelo permanganato de potássio. Nesse sistema, solução analítica de fosfito 0,10% (m/v) H₃PO₃ foi injetado no sistema FIA da Fig. 3, e em seguida, soluções analíticas de P-PO₄ com concentrações 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 15,0 e 16,0 10^{-4} % (m/v)

também foram injetadas. A comparação entre as alturas dos respectivos sinais transientes, permitiu calcular o grau de conversão de fosfito a fosfato.

4.2.3 Sistema FIA proposto

No sistema de fluxos representado na Fig. 4, uma alíquota de amostra, previamente selecionada via L_1 é injetada em um fluido transportador C (H_2O), com auxílio do injetor-comutador proporcional IC. Durante a injeção, o reagente R_4 ($1,0 \text{ mol L}^{-1} H_2SO_4$) é adicionado ao sistema na confluência x, onde recebe a amostra, ambos misturam-se em B_1 e recebem em seguida, os reagentes R_2 e R_3 para formar o complexo PMB como comentado nos sistemas das Fig. 2 e 3. A passagem da mistura pelo detector resulta numa absorvância transiente cuja altura é proporcional à concentração de fósforo (fosfato).

Quando o injetor é comutado para posição inicial, uma outra alíquota de mesmo volume de amostra é selecionada via L_2 e recebe na confluência x o reagente R_1 ($1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} KMnO_4 + 1,0 \text{ mol L}^{-1} H_2SO_4$) e se misturam na bobina de reação B_1 , onde ocorre a oxidação do fosfito a fosfato. Em seguida, a mescla recebe via confluências y e z os reagentes R_2 e R_3 , respectivamente, para formar o complexo azul de fosfomolibdênio. A passagem da mistura pelo detector resulta em uma absorvância transiente cuja altura é proporcional ao teor de fósforo (fosfito + fosfato) presente na amostra. Como descrito no item 4.2.2, por diferença calcula-se o teor de fosfito presente na amostra de fertilizante.

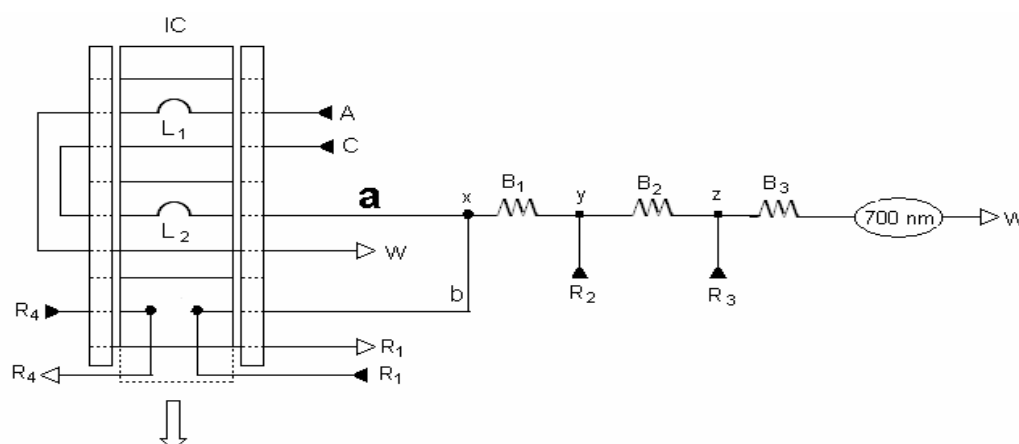


Figura 4. Diagrama de fluxos para determinação de fosfito e fosfato. IC: injetor – comutador; L₁ e L₂: alças de amostragem (100 µL); A: amostra ou solução analítica (3,0 mL min⁻¹); R₁: 1,0 10⁻² mol L⁻¹ KMnO₄ + 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (0,9 mL min⁻¹); R₂: 5% (m/v) ((NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O + 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (0,9 mL min⁻¹); R₃: 1% (m/v) de ácido ascórbico (0,9 mL min⁻¹); R₄: solução 1,0 mol L⁻¹ de ácido sulfúrico (0,9 mL min⁻¹); C: H₂O (0,9 mL min⁻¹); B₁, B₂ e B₃: bobinas de reação e de mistura (50, 30 e 100 cm, respectivamente); x, y e z: pontos de confluência; W: frasco para coleta de resíduos. A seta indica o sentido do movimento IC.

4.2.3.1 Influência da variação do comprimento do segmento a

Para estudar a influência da variação do comprimento do segmento **a** alíquotas da solução analítica de fosfito 0,40% (m/v) H₃PO₃ foram transportadas com H₂O para o espectrofotômetro. A influência do comprimento do segmento **a** na absorbância foi estudada empregando tubos de polietileno de diferentes comprimentos: 2,5; 5,0; 10; 25 e 50 cm. Esse segmento deve ser definido como compromisso entre evitar grandes dispersões (**a** o mais curto possível) e também interpenetração da zona do analito com o permanganato de potássio no caminho principal após a injeção via L₁. Como o segmento **b** está preenchido com oxidante durante a injeção da amostra via L₁, é necessário que o reagente R₄ lave todo segmento **b** (5,0 cm de comprimento) e o percurso analítico da confluência x até o detector para evitar que a amostra se encontre com o permanganato residual no sistema. Assim, a situação ideal será aquela na qual aparecem apenas os picos correspondentes a fosfito.

4.2.3.2 Avaliação do sistema FIA para determinação seqüencial

Para verificar o potencial do sistema FIA projetado para determinação seqüencial de fosfito e fosfato, fez-se o registro separadamente de soluções analíticas contendo a) 10,0 10⁻⁴% (m/v) P-PO₄ b) 0,40% (m/v) H₃PO₃ c) 10,0 10⁻⁴% (m/v) P-PO₄ + 0,40% (m/v) H₃PO₃ e comparou-se as alturas dos sinais transientes.

4.2.3.3 Avaliação da influência da variação da concentração de permanganato de potássio (R₁) na absorbância

Para avaliar a influência da variação da concentração de permanganato de potássio na absorbância foram testadas as seguintes soluções de oxidante preparadas em meio 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄: 1,0 10⁻⁴; 1,0 10⁻³ e 1,0 10⁻² mol L⁻¹. Os reagentes R₂ e R₃ foram fixados em 5,0% (m/v) e 1,0% (m/v), respectivamente e as soluções analíticas de 0,05 a 0,40% (m/v) H₃PO₃ foram injetadas em triplicata. Vale salientar que todo estudo que envolveu avaliação das concentrações de reagentes que seriam otimizadas foi feito de modo univariado, ou seja, variou-se um parâmetro de cada vez.

4.2.3.4 Avaliação da influência da variação da concentração de molibdato de amônio (R₂) na absorbância

A influência da variação da concentração de molibdato de amônio na absorbância é um importante parâmetro a ser estudado, visto que este reagente é o responsável pela formação do ácido molibdofosfórico. Foram injetadas em triplicata soluções analíticas de fosfito (0,05 a 0,40% (m/v) H₃PO₃) para as seguintes soluções de molibdato de amônio: 2,5%; 5,0% e 7,5% (m/v) preparadas em meio 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄. Os reagentes R₁ e R₃ foram fixados em 1,0 10⁻² mol L⁻¹ e 1,0% (m/v), respectivamente.

4.2.3.5 Avaliação da influência da variação da concentração de ácido ascórbico (R₃) na absorvância

A concentração de ácido ascórbico também foi variada a fim de verificar a sua influência na reação. Nesse experimento, foram testadas três concentrações de ácido ascórbico: 0,5%; 1,0% e 2,0% (m/v). Soluções analíticas de 0,05 a 0,40% (m/v) H₃PO₃ foram injetadas em triplicata e os reagentes R₁ e R₂ foram fixados em 1,0 10⁻² mol L⁻¹ e 5,0% (m/v), respectivamente.

4.2.3.6 Avaliação da influência da variação do volume injetado na absorvância

Foi feito um estudo da influência da variação do volume injetado na sensibilidade aumentando-se o comprimento da alça de amostragem de modo a conter 50, 100 e 200 µL. Nesse experimento, foram injetadas em triplicata soluções analíticas de fosfito no intervalo de 0,05 a 0,40% (m/v) H₃PO₃ e os reagentes R₁, R₂ e R₃ foram fixados em 1,0 10⁻² mol L⁻¹; 5,0% (m/v) e 1,0% (m/v), respectivamente.

4.2.3.7 Influência da concentração de fosfato na absorvância de fosfito

Para avaliar a influência da concentração de fosfato máxima na absorvância de fosfito sem manifestar interferência, fez-se o registro de soluções analíticas de fosfito no intervalo de 0,05 a 0,40% (m/v) H₃PO₃, variando a concentração de soluções analíticas contendo 5,0 10⁻⁴ a 250,0 10⁻⁴% (m/v) P-PO₄.

4.2.3.8 Estabilidade das soluções analíticas de fosfito e amostra

Foi feito um estudo para avaliar a estabilidade do fosfito em soluções analíticas e na amostra de fertilizante, sendo estas armazenadas ao abrigo da luz e à temperatura ambiente. As soluções analíticas no intervalo de 0,05 a 0,40% (m/v) H₃PO₃ e a amostra de fertilizante diluída foram processadas no sistema FIA após 24, 48, 72 e 144 horas de armazenagem.

4.2.4 Avaliação das principais figuras de mérito analítico

4.2.4.1 Curva Analítica com soluções de fosfito e soluções analíticas de referência para fosfato

Após todos os parâmetros terem sido dimensionados, soluções contendo 50 e 100 $10^{-4}\%$ (m/v) P-PO₄ que serviram como referência para detectar possíveis interferências de fosfato e soluções analíticas de fosfito no intervalo de 0,05 – 0,40% (m/v) H₃PO₃ foram injetadas em triplicata para a construção da curva analítica de calibração. Pela relação entre absorbância e concentração foi possível avaliar se há obediência à lei de Lambert-Beer (relação linear) e calcular o limite de detecção (L.O.D.) e o limite de quantificação (L.O.Q.), utilizando-se para esses dois últimos as recomendações da IUPAC⁸¹:

$$\text{L.O.D.} = \frac{3_x sd}{b}$$

$$\text{L.O.Q.} = \frac{10_x sd}{b}$$

nas quais *sd* é a estimativa do desvio padrão do branco, e *b* o coeficiente angular da curva analítica de calibração.

4.2.4.2 Verificação da repetibilidade do método

A repetibilidade do método proposto foi avaliada por meio de injeções sucessivas da solução analítica 0,10% (m/v) H₃PO₃. Foram registrados os sinais transientes relativos a 13 injeções dessa solução e o desvio padrão relativo (r.s.d.) foi calculado pela fórmula:

$$\text{r.s.d.} = \frac{sd}{\chi} \times 100$$

na qual sd é o desvio padrão das alturas dos sinais transientes e χ é a média desses sinais.

4.2.4.3 Teste de adição e recuperação

A exatidão foi avaliada por meio de teste de adição e recuperação de padrão. Esse teste foi feito com amostra de fertilizante dissolvida em água de modo a conter $2,0 \text{ g L}^{-1}$ sendo adicionado a cada solução: 1) $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO₄, 2) $20,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO₄, 3) $0,05\%$ (m/v) H₃PO₃, 4) $0,20\%$ (m/v) H₃PO₃ e 5) $0,05\%$ (m/v) H₃PO₃ + $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO₄.

4.2.4.4 Análise das amostras

Dada a inexistência de material de referência para fosfito para comprovar a exatidão analítica, esta foi também avaliada por meio da aplicação do método proposto e otimizado à análise em triplicata de 8 produtos comerciais. As amostras também foram analisadas por uma técnica analítica baseada em amperometria em fluxo⁶⁵. Os resultados foram avaliados por testes estatísticos bem estabelecidos, com ênfase na precisão e exatidão das medidas, estabelecendo-se os intervalos de confiança da média. A avaliação da existência de uma diferença significativa na precisão entre o conjunto de dados obtido pelo método proposto e o conjunto obtido pelo método comparativo foi feita pelo teste F ⁸²:

$$F = \frac{s^2_1}{s^2_2}$$

onde: s^2 são as variâncias que sempre são dispostas de modo que o valor de F seja ≥ 1 .

Para a comparação entre as médias experimentais dos métodos citados, utilizou-se o teste t - *Student* que serve para indicar se existe ou não diferença significativa entre as médias e suas incertezas para os diferentes métodos⁸³. A fórmula utilizada foi:

$$t_{calc} = \frac{d}{SD^{agrupado}} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}$$

$$SD^{agrupado} = \sqrt{\frac{sd^2_1(n_1-1) + sd^2_2(n_2-1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

na qual d é a diferença entre os valores das médias de cada método, sd é o desvio padrão da médias, n é o número de repetições, t_{calc} é comparado com o $t_{tabelado}$ para n_1+n_2-2 graus de liberdade, $SD^{agrupado}$ é o desvio-padrão agrupado fazendo uso de ambos os grupos de dados.

4.2.4.5 Velocidade analítica, consumo de reagentes e amostra

Após a verificação da precisão e da exatidão do método, calculou-se as principais características do sistema FIA, tais como velocidade analítica e consumo de reagentes e de amostra.

A velocidade analítica foi calculada a partir do sinal transiente registrado em alta velocidade. Para esse estudo utilizou-se a alça de amostragem de 20 cm de comprimento e fez-se o registro da solução analítica de fosfito 0,10% (m/v) H_3PO_3 . O sinal transiente registrado em alta velocidade possibilita conhecer o tempo médio de residência (T_r) definido como o tempo entre a injeção e a obtenção do máximo do sinal transiente e o tempo de limpeza (T_w) definido como o tempo necessário para que o sinal transiente retorne do máximo a um determinado valor. Os valores de T_r e T_w podem ser utilizados para estimar a frequência analítica (f), a qual é definida como:

$$f = \frac{1}{T_r + T_w}$$

Assim, a frequência analítica é inversamente proporcional a T_r e T_w , portanto, uma diminuição em T_r e T_w acarreta um aumento em f . Uma forma de diminuir

o valor de T_w é admitir uma porcentagem de “carryover”, ou seja, realizar a injeção da amostra no momento em que a absorvância retorne a uma determinada porcentagem do sinal máximo da injeção anterior. Para os cálculos admitiu-se 2% de “carryover” para o T_w .

O cálculo do volume de amostra consumido em cada determinação foi feito aplicando a fórmula do cilindro:

$$V = \pi \times r^2 \times c$$

na qual r corresponde ao raio e c corresponde ao comprimento da alça de amostragem.

O consumo dos reagentes foi calculado a partir das respectivas vazões reagentes, em relação ao tempo de um ciclo analítico, que é a soma do tempo de residência mais o tempo de limpeza do sinal transiente⁴⁵.

4.2.4.6 Dispersão

A dispersão é uma importante característica a ser definida, visto que em tubos finos a dispersão da zona da amostra é o resultado da redistribuição do material nos elementos de fluido nas direções axial e radial. Nesse estudo, foi feito o registro da solução analítica 0,10% (m/v) H_3PO_3 variando-se o comprimento da alça de amostragem no intervalo de 10 a 250 cm. Pelo grau de dispersão verifica-se em qual volume injetado há a ausência de dispersão, este foi avaliado através do coeficiente de dispersão (D), o qual foi calculado a partir da seguinte equação:

$$D = \frac{A_0}{A}$$

onde: A_0 é a absorvância obtida sem dispersão e A é a absorvância registrada para um determinado volume injetado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Sistema FIA preliminar

5.1.1 Influência da concentração de permanganato na oxidação do fosfito a fosfato

Estudou-se a viabilidade da oxidação de fosfito em linha variando-se a concentração de permanganato de potássio (R_1) do sistema de fluxos da Fig. 2. A influência da concentração de permanganato de potássio nas absorvâncias relativas as soluções analíticas 0,05 – 0,40% (m/v) H_3PO_3 foi estudada preparando-se o reagente R_1 como sendo $5,0 \cdot 10^{-3}$ e $5,0 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} em meio $2,0$ mol L^{-1} H_2SO_4 (Fig. 5). Análise desta figura revela que melhor sensibilidade foi obtida para R_1 $5,0 \cdot 10^{-3}$ mol L^{-1} + $2,0$ mol L^{-1} H_2SO_4 , sendo esta a concentração escolhida para dar seqüência ao estudo.

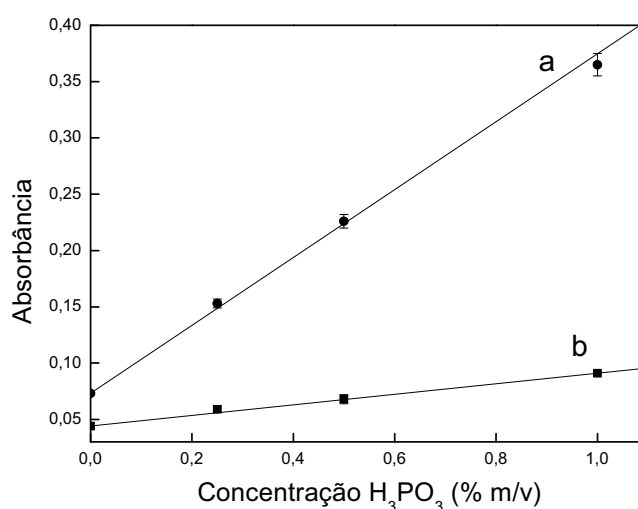


Figura 5. Curvas analíticas para fosfito obtidas com o sistema FIA da Fig. 2 empregando diferentes concentrações de permanganato de potássio (R_1): $5,0 \cdot 10^{-3}$ mol L^{-1} (a) e $5,0 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} (b) ambas preparadas em meio $2,0$ mol L^{-1} de ácido sulfúrico.

5.1.2 Influência da variação do comprimento da bobina de reação B₁

O estudo da influência da variação do comprimento da bobina de reação B₁ da Fig. 2 na absorbância foi feito porque esta bobina define o tempo de reação de oxidação entre fosfito e permanganato de potássio.

Observa-se que aumentando o comprimento da bobina, as absorbâncias aumentam linearmente (Fig. 6) com o tempo de interação entre fosfito e permanganato. Conseqüentemente, há maior conversão de fosfito a fosfato para bobinas mais longas. Como o objetivo principal desse estudo foi verificar se essa oxidação aconteceria em tempos relativamente rápidos de modo a viabilizar a oxidação em linha de fosfito, concluiu-se que tempo de contato entre fosfito e o oxidante, mesmo que relativamente curto já é suficiente para converter fosfito a fosfato, mesmo que parcialmente, num sistema FIA a ser projetado empregando a oxidação da amostra no percurso analítico principal, antes da confluência com os reagentes cromogênicos (R₂ e R₃).

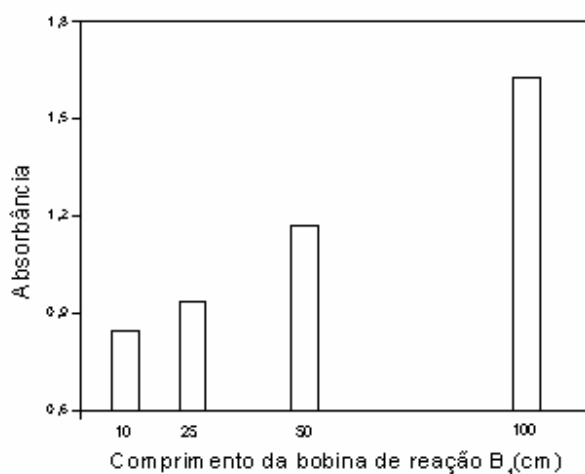


Figura 6. Influência da variação do comprimento da bobina B₁ na absorbância utilizando o sistema FIA da Fig. 2: R₁ = 5,0 10⁻³ mol L⁻¹ KMnO₄ + 2,0 mol L⁻¹ H₂SO₄; R₂ = 5,0% m/v (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O + 0,5 mol L⁻¹ H₂SO₄; R₃ = 1,0% m/v ácido ascórbico.

5.2 Sistema FIA com oxidação em linha

Como observado no sistema da Fig. 2 em que a oxidação de fosfito pelo permanganato de potássio é relativamente rápida, estudou-se em seguida uma outra configuração de sistema de fluxos com o objetivo de avaliar a oxidação seqüencial em

linha de fosfito. A configuração adotada foi idêntica àquela proposta por Ito⁷⁵ *et al.* para determinar apenas fosfito. Esta configuração possibilita verificar de modo rápido a resposta do sistema frente aos ânions fosfito e fosfato. Contudo, como limitação, há a necessidade de substituição manual do reagente R_1 por H_2SO_4 , ou seja há a necessidade de um outro sistema para determinar fosfato.

5.2.1 Otimizando a determinação seqüencial

Vale destacar que esse estudo teve como objetivo avaliar a resposta do sistema FIA da Fig. 3 frente ao teor de fósforo (proveniente de fosfato) tanto na presença como na ausência de permanganato de potássio. É muito importante avaliar a resposta do sistema frente a um determinado teor de fósforo, independentemente do reagente R_1 ser $KMnO_4 + H_2SO_4$ ou H_2SO_4 apenas. Assim, foram preparadas duas curvas analíticas em meio de $R_1 = 1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} KMnO_4 + 1 \text{ mol L}^{-1} H_2SO_4$ (Fig. 7 - a) e $R_1 = 1,0 \text{ mol L}^{-1} H_2SO_4$ (Fig. 7 - b) com o objetivo de comparar as inclinações de ambas. Análise da figura revela que ambas apresentaram coeficientes angulares semelhantes (0,0183 – curva a; 0,0179 – curva b) indicando assim que há grandes chances da determinação seqüencial de fosfito e fosfato ser viável num sistema que envolva a adição intermitente desses reagentes. Vale salientar que a diferença na intensidade do sinal de absorvância ocorre, porque o permanganato de potássio absorve a radiação no comprimento de onda utilizado.

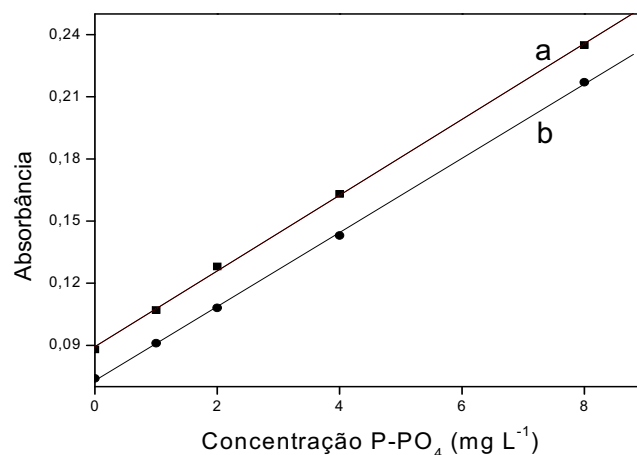


Figura 7. Curvas analíticas para fósforo (fosfato) obtida com o sistema FIA da Fig. 2 empregando como R₁ solução 1,0 10⁻² mol L⁻¹ KMnO₄ + 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (a) e R₁ solução 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄ (b).

O desempenho do sistema FIA nesta etapa foi avaliado por meio da injeção e registro de sinais transientes de soluções analíticas de calibração no intervalo de 0,05% a 0,40% (m/v) H₃PO₃ (Fig. 8). Análise da figura mostra boa relação linear entre absorbância e concentração do analito e também boa precisão das medidas, observada na forma de registro de sinais transientes repetitivos.

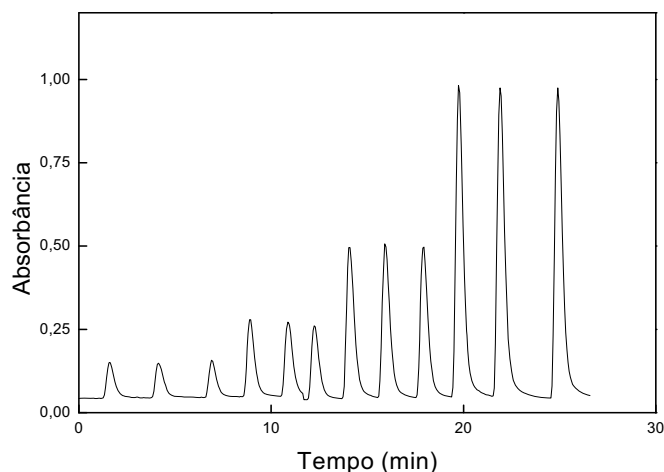


Figura 8. Registro de sinais transientes de fosfito (0,05; 0,10; 0,20; 0,40% m/v H₃PO₃) obtido com o sistema FIA da Fig. 3: R₁ solução 1,0 10⁻² mol L⁻¹ KMnO₄ + 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄, R₂ solução 5,0% m/v (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O + 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄; R₃ = 1,0% m/v ácido ascórbico.

5.2.2 Estudo da conversão de fosfito a fosfato

Como os sistemas de injeção em fluxo são considerados bons gerenciadores de soluções, os quais permitem que se monitore uma reação fora das condições de equilíbrio químico, com boa precisão, pois os tempos são rigidamente controlados pela vazão do sistema, deve ser comentado que não há a necessidade de a oxidação do fosfito ser quantitativa: o grau de oxidação de fosfito será o mesmo para as diferentes soluções analíticas de calibração e amostras. O importante é ter o conhecimento do grau de conversão do analito a fosfato. A Fig. 9 ilustra, da esquerda para a direita, sinal transiente relativo a uma solução de fosfito contendo 0,10% (m/v) H_3PO_3 – o que corresponde a $378 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) em P; os sinais seguintes correspondem a soluções analíticas de calibração de 1,0 a $16,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 . Observa-se que a altura do sinal da solução de fosfito aproxima-se da do padrão de $15,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 . Portanto, o grau de conversão de fosfito a fosfato pode ser calculado como sendo aproximadamente 4%.

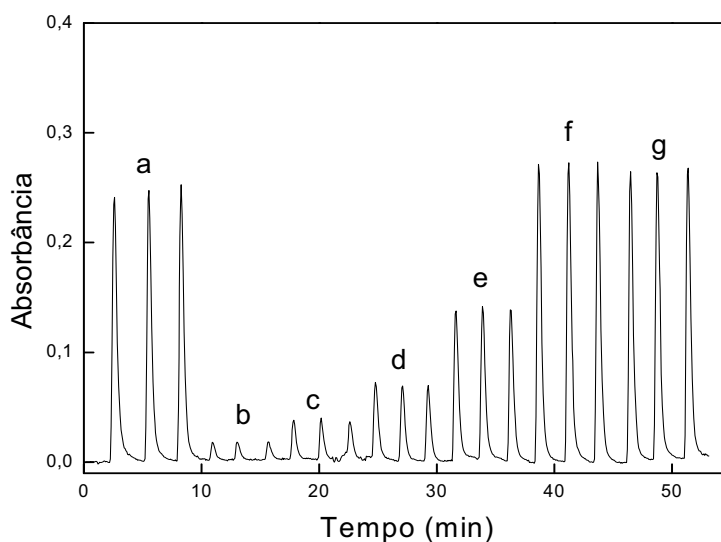


Figura 9. Sinais transientes obtidos com o sistema da Fig. 3 referentes a 0,10% (m/v) H_3PO_3 (a), $1,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 (b), $2,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 (c), $4,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 (d), $8,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 (e), $16,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 (f) e $15,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 (g).

5.3 Sistema FIA proposto

Um novo sistema de fluxos foi projetado com o objetivo de evitar que o reagente R_1 da Fig. 3 fosse substituído manualmente pelo operador. A proposta do sistema representado na Fig. 4 está fundamentada no conceito da adição intermitente de reagentes: mediante comutação, quando se adiciona o $KMnO_4 + H_2SO_4$ (R_1) ao sistema a solução ácida (R_4) é reciclada; quando se adiciona R_4 ao sistema, o reagente R_1 é reciclado. Nesse sistema, uma mesma alíquota da amostra é injetada duas vezes seqüencialmente, uma na presença e a outra ausência de oxidante, fornecendo dois sinais transientes: o primeiro corresponde ao teor de fósforo proveniente de fosfito + fosfato; o segundo sinal transiente corresponde apenas ao teor de fósforo vindo do fosfato. Como a amostra recebe, por confluência, as soluções R_1 e R_4 alternadamente, é necessário avaliar a influência do comprimento do segmento a (Fig. 4) na absorvância, a fim de evitar grandes dispersões e evitar também que a zona do analito se encontre com R_4 no ponto de confluência x do sistema.

5.3.1 Influência da variação do comprimento do segmento a

Como descrito no item 4.2.3.1 a influência do comprimento do segmento a na absorvância foi estudada com o compromisso de evitar grandes dispersões (a o mais curto possível) e ao mesmo tempo evitar interpenetração da zona do analito com permanganato de potássio no caminho principal após a injeção via L_1 . O segmento foi estudado conectando-se tubos de polietileno antes da confluência x com diferentes tamanhos: 2,5 a 50 cm e em cada situação fez-se o registro dos sinais transientes de uma solução analítica 0,40% (m/v) H_3PO_3 . Análise das Fig. 10 - 14 revela que há diminuição significativa dos sinais transientes primários (oxidação indesejada) com o aumento do segmento a . A melhor situação foi atingida com $a = 50$ cm, pois este comprimento evitou que houvesse grande dispersão e interpenetração da zona da amostra com permanganato de potássio, por isso foi escolhido para continuar o desenvolvimento do sistema.

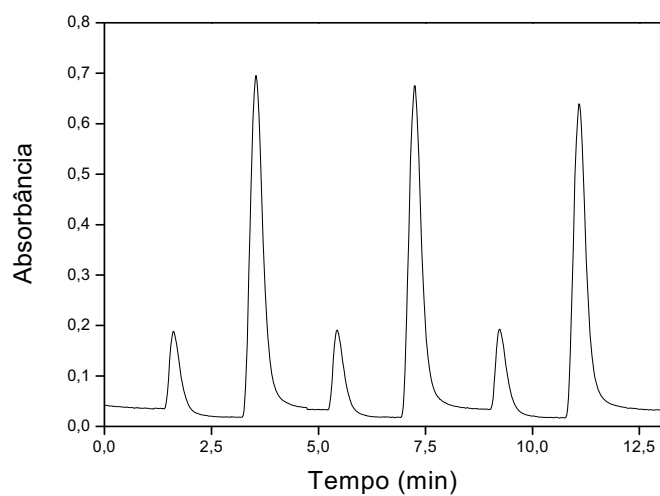


Figura 10. Sinais transientes em duplicata referentes a injeção de 0,40% (m/v) H_3PO_3 via L_1 (pico à esquerda) e L_2 (pico à direita) obtidos com o sistema da Fig. 4 com $a = 2,5$ cm.

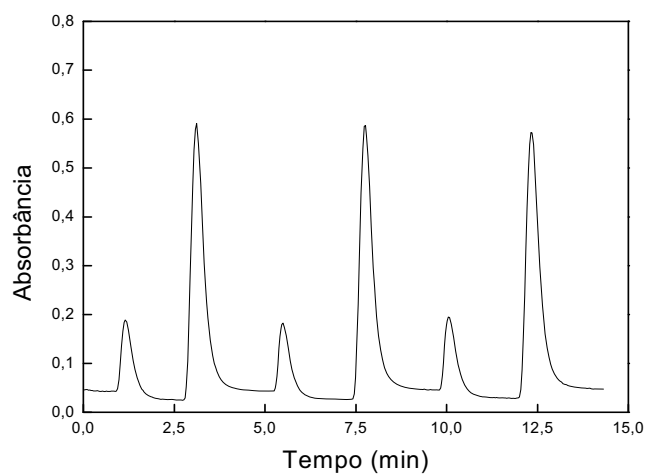


Figura 11. Sinais transientes em duplicata referentes a injeção de 0,40% (m/v) H_3PO_3 via L_1 (pico à esquerda) e L_2 (pico à direita) obtidos com o sistema da Fig. 4 com $a = 5$ cm.

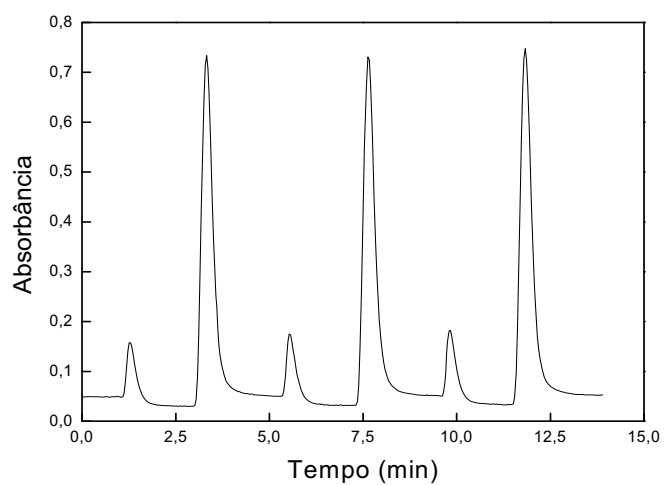


Figura 12. Sinais transientes em duplicata referentes a injeção de 0,40% (m/v) H_3PO_3 via L_1 (pico à esquerda) e L_2 (pico à direita) obtidos com o sistema da Fig. 4 com $a = 10$ cm.

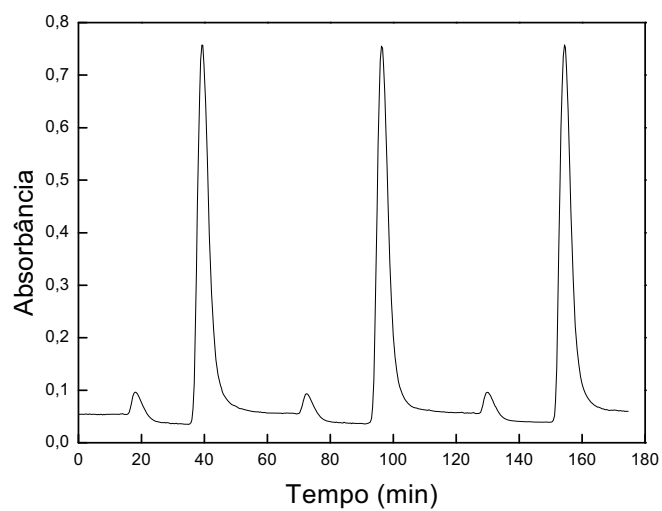


Figura 13. Sinais transientes em duplicata referentes a injeção de 0,40% (m/v) H_3PO_3 via L_1 (pico à esquerda) e L_2 (pico à direita) obtidos com o sistema da Fig. 4 com $a = 25$ cm.

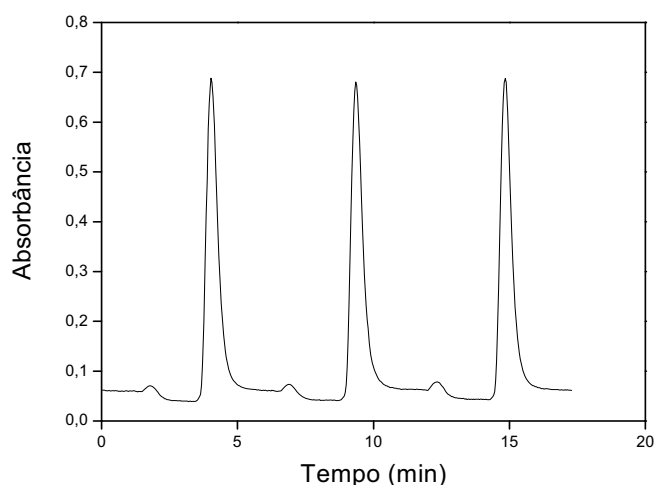


Figura 14. Sinais transientes em duplicata referentes a injeção de 0,40% (m/v) H_3PO_3 via L_1 (pico à esquerda) e L_2 (pico à direita) obtidos com o sistema da Fig. 4 com $a = 50$ cm.

5.3.2 Avaliação do sistema FIA para determinação seqüencial

Após a otimização do comprimento do segmento **a**, fez-se o registro de soluções analíticas $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 (Fig. 15 - a), 0,40% (m/v) de H_3PO_3 (Fig. 15 - b) e $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 + 0,40% (m/v) de H_3PO_3 (Fig. 15 - c) com o objetivo de testar o potencial desse sistema FIA para a determinação seqüencial proposta. Observa-se na figura que as alturas dos sinais registrados do conjunto “c”, na ausência de KMnO_4 (sinais menores), são semelhantes àquelas obtidas para o conjunto “a”, pois refletem os mesmos teores de P- PO_4 . Já os sinais mais intensos do conjunto “c” correspondem à soma das alturas médias do conjunto de “a” e “b”. Análise da figura revela também que a diferença em altura dos picos do conjunto “c” é equivalente a altura média dos picos do conjunto “b”. Em resumo, esses cálculos preliminares reforçam fortemente que o sistema proposto tem potencial para medir conjuntamente fosfito em presença de fosfato.

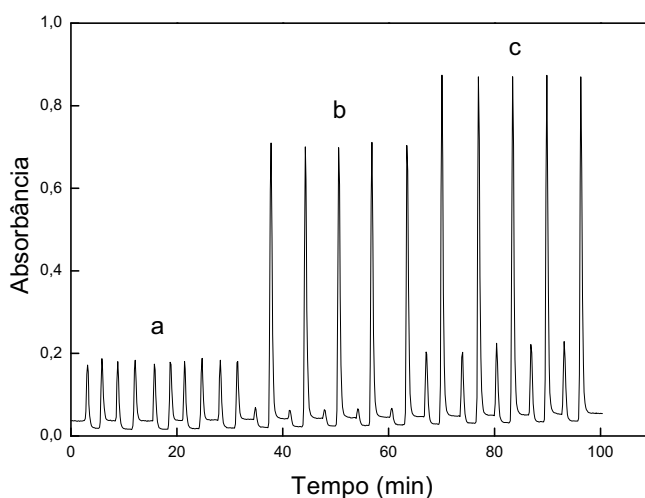


Figura 15. Sinais transientes obtidos com o sistema da Fig. 4 correspondentes a injeção ($n=5$) de soluções analíticas contendo $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO₄ (a), 0,40% (m/v) H₃PO₃ (b) e $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO₄ + 0,40% (m/v) H₃PO₃ (c).

5.3.3 Avaliação da influência da variação da concentração de permanganato de potássio na absorbância

Estudou-se a influência da variação de diferentes concentrações ($1,0 \cdot 10^{-4}$; $1,0 \cdot 10^{-3}$ e $1,0 \cdot 10^{-2}$ mol L⁻¹ em meio $1,0$ mol L⁻¹ H₂SO₄) de permanganato de potássio na absorbância. Para execução deste estudo, soluções analíticas de fosfito 0,05% a 0,40% (m/v) H₃PO₃ foram injetadas no sistema FIA da Fig. 4. Pela análise da Fig. 16, observa-se que variando a concentração de permanganato de potássio de $1,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ para $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹ não houve aumento significativo nos sinais de absorbância; o dobro no sinal de absorbância foi observado quando variou-se a concentração de $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹ para concentração superior. A análise da Fig. 17 mostra que maior sensibilidade foi encontrada para $1,0 \cdot 10^{-2}$ mol L⁻¹, portanto foi esta concentração definida para o reagente R₁.

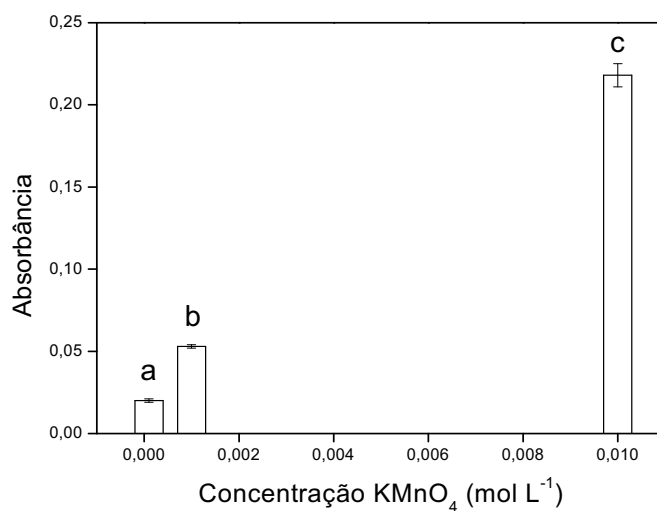


Figura 16. Influência da variação da concentração de permanganato de potássio na absorbância: $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 + 1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (a); $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 + 1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (b); $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 + 1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (c).

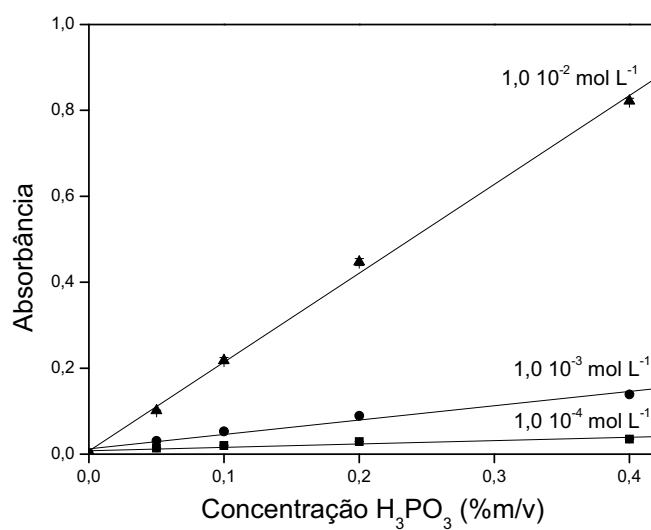


Figura 17. Curvas analíticas para fosfito variando a concentração de permanganato de potássio. Soluções analíticas: 0,05; 0,10; 0,20 e 0,40% (m/v) H_3PO_3 .

5.3.4 Avaliação da influência da variação da concentração de molibdato de amônio na absorbância

A influência da variação da concentração de molibdato de amônio (R_2) na absorbância também foi investigada fazendo-se a injeção de soluções analíticas de fosfito 0,05% a 0,40% (m/v) H_3PO_3 em diferentes concentrações (2,5; 5,0 e 7,5% m/v em meio $1,0 \text{ mol L}^{-1} H_2SO_4$) de molibdato de amônio. Observa-se na Fig. 18 que quando a concentração de molibdato variou de 2,5% para 5,0% a absorbância aumentou de 0,153 para 0,210 e manteve-se praticamente constante para concentração superior de molibdato. Levando-se em conta sensibilidade (Fig. 19) e consumo de reagentes a solução R_2 foi selecionada como sendo 5,0% (m/v) para continuar o trabalho.

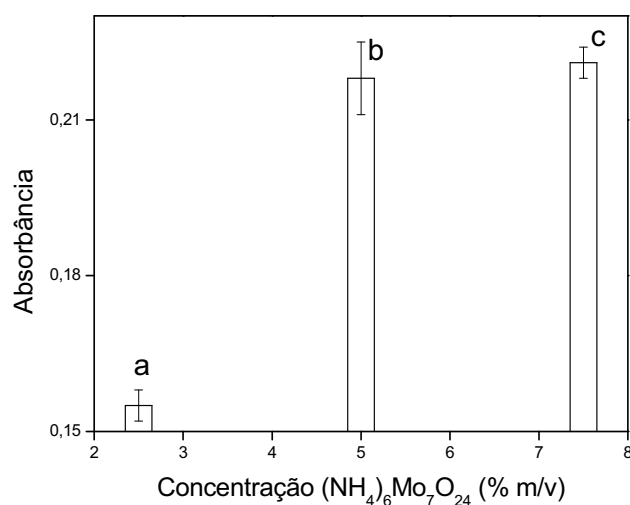


Figura 18. Influência da variação da concentração de molibdato de amônio na absorbância: 2,5% m/v $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O + 1,0 \text{ mol L}^{-1} H_2SO_4$ (a); 5,0% m/v $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O + 1,0 \text{ mol L}^{-1} H_2SO_4$ (b); 7,5% m/v $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O + 1,0 \text{ mol L}^{-1} H_2SO_4$ (c).

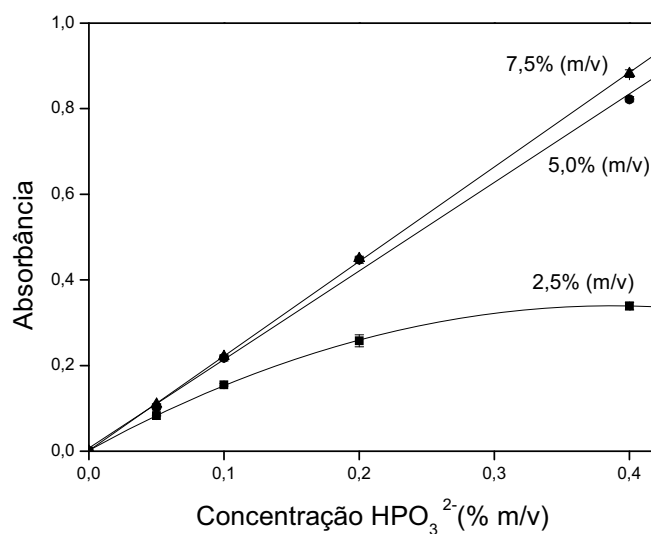


Figura 19. Curvas analíticas para fosfito variando a concentração de molibdato de amônio. Soluções analíticas: 0,05; 0,10; 0,20 e 0,40% (m/v) H_3PO_3 .

5.3.5 Avaliação da influência da variação da concentração de ácido ascórbico na absorvância

Para o estudo da influência da variação da concentração de ácido ascórbico (R_3) na absorvância diferentes concentrações 0,5%; 1,0% e 2,0% (m/v) foram avaliadas. Para execução deste estudo, soluções analíticas de fosfito 0,05% a 0,40% (m/v) H_3PO_3 foram injetadas no sistema FIA da Fig. 4. A absorvância aumentou significativamente quando variou-se a concentração de ácido ascórbico de 0,5% a 1,0%; o mesmo não foi observado para a concentração superior (Fig. 20). Assim, levando-se em conta a sensibilidade da curva analítica (Fig. 21) e intensidade no sinal de absorvância a concentração do reagente R_3 definida foi 1,0% (m/v) para dar continuidade aos experimentos.

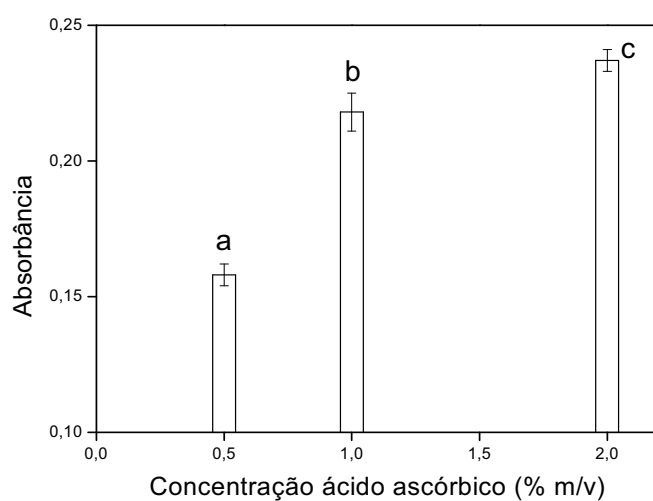


Figura 20. Influência da variação da concentração de ácido ascórbico na absorbância: 0,5% m/v ácido ascórbico (a); 1,0% m/v ácido ascórbico (b); 2,0% m/v ácido ascórbico (c).

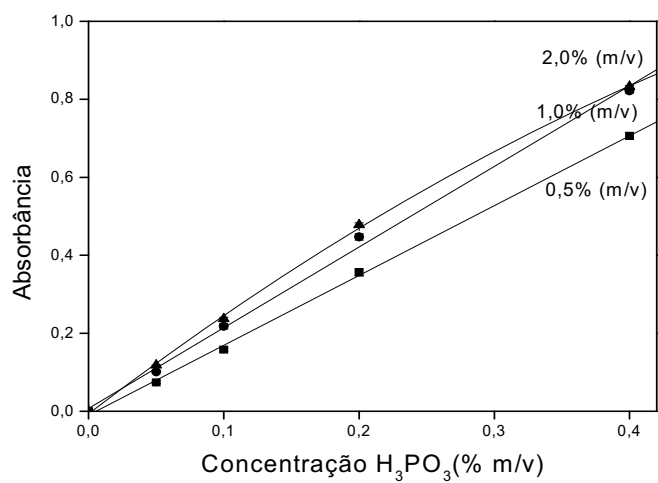


Figura 21. Curvas analíticas para fosfito variando a concentração de ácido ascórbico. Soluções analíticas: 0,05; 0,10; 0,20 e 0,40% (m/v) H₃PO₃.

5.3.6 Avaliação da influência da variação do volume injetado na absorvância

Foi avaliada a influência da variação do volume injetado na absorvância, fazendo-se a injeção das soluções analíticas de fosfito 0,05% a 0,40% (m/v) H_3PO_3 no sistema FIA da Fig. 4, utilizando três comprimentos (10, 20 e 40 cm) de alça de amostragem que correspondem a 50, 100 e 200 μL , respectivamente. Como pode ser observado quando o volume dobrou de V_1 para V_2 , a absorvância aumentou proporcionalmente (Fig 22.). Porém, o mesmo não foi observado quando o volume injetado foi de V_2 para V_3 , pois dobrou-se o volume, mas não se observou aumento proporcional de absorvância (Fig 22.). Assim, levando-se em consideração a eficiência do sistema e boa sensibilidade (Fig 23.) a alça de amostragem definida foi 20 cm de comprimento que corresponde a 100 μL de volume injetado.

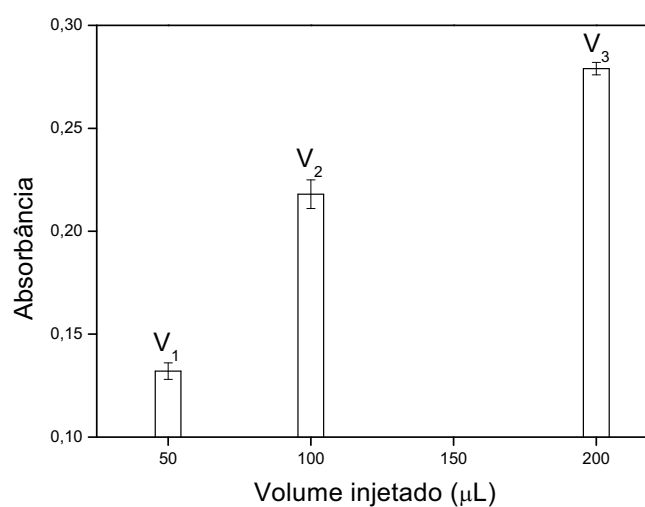


Figura 22. Influência da variação do volume de amostra na absorvância: 50 μL (V_1); 100 μL (V_2); 200 μL (V_3).

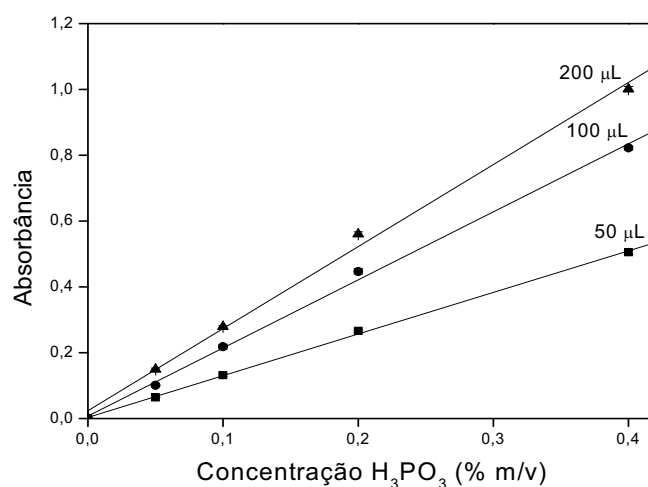


Figura 23. Curvas analíticas para fosfito variando o volume de amostra injetado. Soluções analíticas: 0,05; 0,10; 0,20 e 0,40% (m/v) H₃PO₃.

5.3.7 Influência da concentração de fosfato na absorbância de fosfito

O estudo da influência da concentração de fosfato na absorbância de fosfito foi feito para avaliar a tolerância do método em relação ao teor de fosfato presente nas amostras uma vez que há a possibilidade de haver produtos preparados exclusivamente ou parcialmente com fosfato e não fosfito. Para identificar a concentração de fosfato que interfere na absorbância de fosfito, comparou-se a média das alturas dos sinais transientes que continham solução analítica de P-PO₄ com a média das alturas dos sinais transientes que continham solução analítica de fosfito. Os resultados estão expressos em porcentagem de interferência da razão da concentração de P-H₃PO₃ pela P-PO₄ e representados na Tabela 2.

Tabela 2. Porcentagem de interferência da razão [fosfito] pela [fosfato].

| $[P-H_3PO_3]/[P-PO_4]$ | Porcentagem de Interferência |
|------------------------|------------------------------|
| 0,756 | 100 |
| 1,51 | 100 |
| 3,02 | 100 |
| 6,04 | 100 |

Pelos resultados mostrados na Tabela 2, estas são as razões da [P-H₃PO₃] pela [P-PO₄] que interferem na absorvância de fosfito. Assim, uma amostra de fertilizante pode conter até aproximadamente 2,5% (m/m) P-PO₄ que não irá interferir na quantificação de fosfito.

5.3.8 Estabilidade de fosfito nas soluções analíticas e amostra

O estudo para avaliar a estabilidade do fosfito em soluções analíticas e na amostra de fertilizante foi feito para verificar se fosfito oxida a fosfato em tempo relativamente curto. Sendo assim, após preparadas as soluções analíticas de 0,05 a 0,40% (m/v) H₃PO₃ e feita a dissolução apropriada da amostra, estas foram injetadas no sistema FIA da Fig. 4 e posteriormente armazenadas para serem processadas após 24, 48, 72 e 144 horas de armazenagem. Para avaliar se fosfito oxidou a fosfato nas soluções analíticas com o passar das horas, comparou-se os coeficientes angulares das equações da reta (Tabela 3); para amostra de fertilizante foram feitas análises sucessivas de uma amostra dissolvida em água e o resultado obtido foi comparado com o valor expresso no rótulo (28% m/m P₂O₅) do produto. Os resultados estão expressos na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados para verificar a estabilidade de fosfito

| | <i>Equações da reta e coeficientes de correlação linear (r²)</i> | | <i>[Amostra] % m/m P₂O₅</i> |
|-------|--|---------|--|
| 0 h | $y = 0,0209 + 1,92 \cdot 10^{-4} x$ | 0,99846 | 28,7 |
| 24 h | $y = 0,00628 + 1,96 \cdot 10^{-4} x$ | 0,99957 | 29,0 |
| 48 h | $y = 0,0148 + 2,29 \cdot 10^{-4} x$ | 0,99916 | 28,4 |
| 72 h | $y = 0,00698 + 2,21 \cdot 10^{-4} x$ | 0,99972 | 28,1 |
| 144 h | $y = 0,00700 + 2,09 \cdot 10^{-4} x$ | 0,99984 | 29,2 |

Pelos resultados mostrados na Tabela 3, pode-se observar que os coeficientes angulares das curvas analíticas foram próximos, ou seja, não houve perda na sensibilidade analítica. Fosfito presente nas soluções analíticas 0,05 a 0,40% (m/v) H₃PO₃ não oxidaram significativamente até 144 horas após o seu preparo. O mesmo foi

observado para a amostra de fertilizante, pois os valores encontrados foram próximos ao valor especificado no rótulo, 28% (m/m) P_2O_5 .

5.3.9 Avaliação das principais figuras de mérito

5.3.9.1 Curva analítica com soluções de fosfito e soluções analíticas de referência para fosfato

Após todos os parâmetros terem sido estabelecidos, soluções contendo 50 e 100 $10^{-4}\%$ (m/v) de $P-PO_4$ que serviram como referência para monitorar algum problema de interferência de fosfato e soluções analíticas de fosfito no intervalo de 0,05 a 0,40% (m/v) H_3PO_3 foram injetadas no sistema FIA para a construção da curva analítica de calibração. Análise da Fig. 24 mostra que a relação entre absorbância e concentração segue a Lei de Lambert-Beer, apresentando boa linearidade (coeficiente de correlação linear $r^2 = 0,99912$). Os sinais transientes correspondentes à curva analítica e estão representados na Fig. 25.

O limite de detecção é a menor medida de resposta para a absorbância que pode ser detectada com certeza razoável, e pela curva analítica de calibração foi possível avaliar os limite de detecção (L.O.D = $9,64 \cdot 10^{-4}\%$ m/v H_3PO_3) indicando que para amostras que possuïrem acima do valor deste limite, o resultado será confiável. Também foi possível calcular o limite de quantificação (L.O.Q. = $32,1 \cdot 10^{-4}\%$ m/v H_3PO_3).

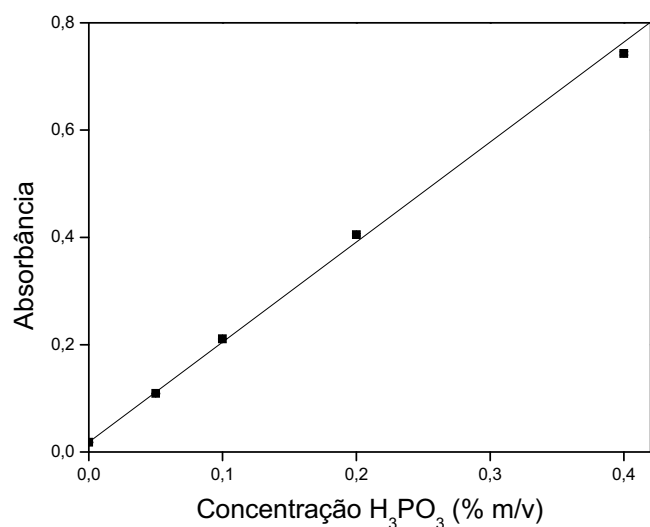


Figura 24. Curva analítica para fosfito. Soluções analíticas: 0,05; 0,10; 0,20 e 0,40% (m/v) H₃PO₃ correspondentes a 433, 866, 1730 e 3462 (10⁻⁴% m/v) P₂O₅, respectivamente.

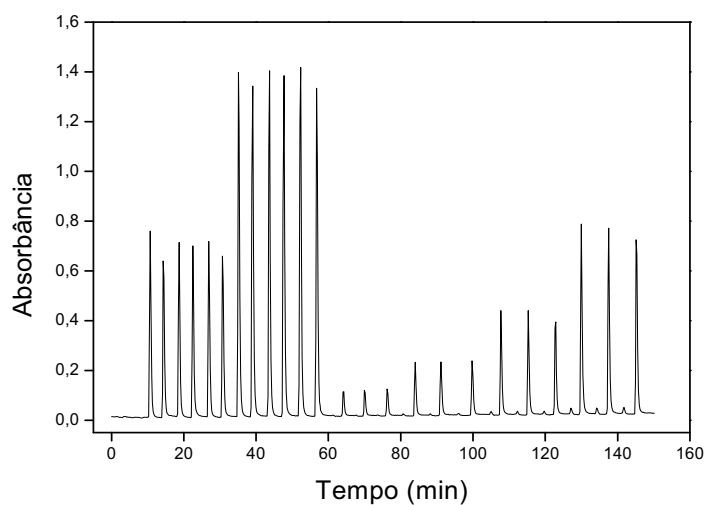


Figura 25. Sinais transientes obtidos com o sistema da Fig. 4. Da esquerda para a direita os sinais correspondem ao branco analítico e as soluções 50 mg L⁻¹ de P-PO₄ e 100 mg L⁻¹ de P-PO₄ (6 picos); e os sinais em triplicata correspondem a: 0,05% (m/v) H₃PO₃; 0,10% (m/v) H₃PO₃; 0,20% (m/v) H₃PO₃ e 0,40% (m/v) H₃PO₃, respectivamente.

5.3.9.2 Precisão

A precisão do método foi avaliada pela injeção sucessiva ($n=13$) da solução analítica de fosfito 0,10% (m/v) H₃PO₃ (Fig. 26). Avaliação da precisão das

medidas por meio de cálculo do desvio padrão relativo das mesmas, revela que o sistema FIA proposto apresenta boa repetibilidade, com r.s.d. $\leq 3,6\%$.

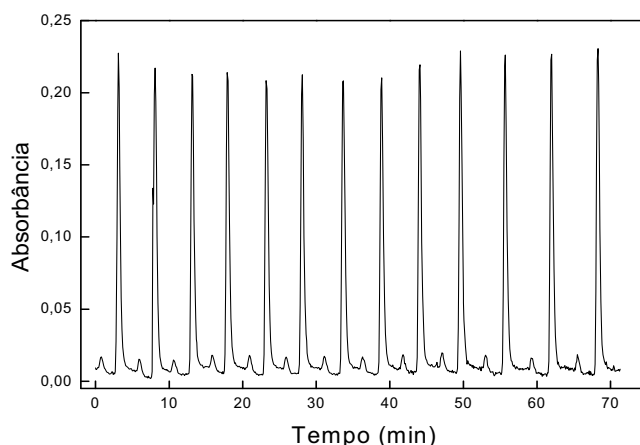


Figura 26. Registro de sinais transientes obtidos com o sistema da Fig. 4 e correspondentes à solução analítica de fosfito 0,10% (m/v) H_3PO_3 injetada treze vezes sucessivamente.

5.3.9.3 Testes de adição e recuperação

Antes da análise das amostras, e para avaliar a exatidão do método analítico, foram feitos testes de adição e recuperação de padrão. Esses testes foram feitos em triplicata com amostra de fertilizante dissolvida em água de modo que cada solução contivesse $2,0 \text{ g L}^{-1}$ sendo adicionado a cada solução: 1) $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO_4 , 2) $20,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO_4 , 3) $0,05\%$ (m/v) H_3PO_3 , 4) $0,20\%$ (m/v) H_3PO_3 e 5) $0,05\%$ (m/v) $\text{H}_3\text{PO}_3 + 10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P-PO_4 (Fig. 27). A análise da figura revela que o conjunto “a” dos sinais transientes refere-se à amostra de fertilizante dissolvida cuja altura corresponde ao teor de fósforo (fosfito). Portanto, os cálculos para verificar a recuperação do analito foram feitos por comparação das alturas entre os sinais transientes. Para os conjuntos “b” e “c” dos sinais transientes o teor de fósforo (fosfito) é a subtração dos maiores sinais pelos menores sinais de absorvância; para os conjuntos “d” e “e” o teor de fósforo (fosfito) é obtido por comparação do que foi adicionado (concentrações dos padrões da curva analítica) com a altura da amostra dissolvida e para o conjunto “f”, foi feito a subtração dos maiores sinais pelos menores sinais de absorvância e o resultado foi comparado com altura do sinal transiente da amostra mais

a altura da solução analítica (0,05% m/v H_3PO_3). Os resultados da recuperação do padrão estão representados na Tabela 4.

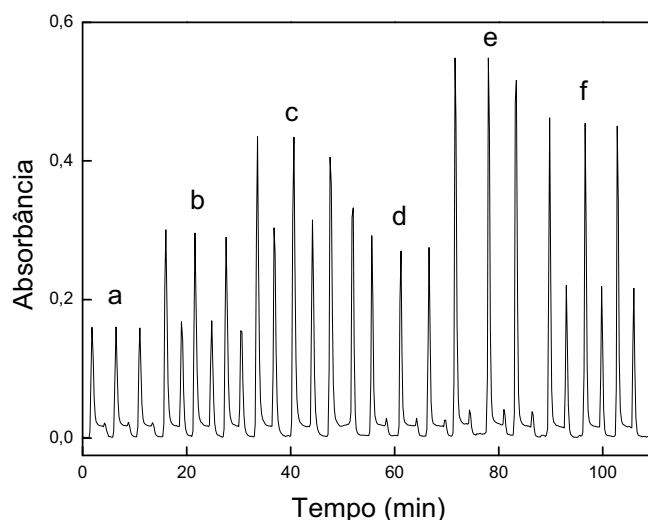


Figura 27. Sinais transientes obtidos com o sistema da Fig. 4 associados ao teste de adição e recuperação. O conjunto **a** corresponde aos sinais transientes de uma amostra de fertilizante dissolvida em água de modo a conter $2,0 \text{ g L}^{-1}$; o conjunto **b** corresponde a amostra de fertilizante dissolvida em água + $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 ; o conjunto **c** corresponde a amostra de fertilizante dissolvida em água + $20,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 ; o conjunto **d** corresponde a amostra de fertilizante dissolvida em água + 0,05% (m/v) H_3PO_3 ; o conjunto **e** corresponde a amostra de fertilizante dissolvida em água + 0,20% (m/v) H_3PO_3 ; o conjunto **f** corresponde a amostra de fertilizante dissolvida em água + 0,05% (m/v) H_3PO_3 + $10,0 \cdot 10^{-4}\%$ (m/v) P- PO_4 .

Tabela 4. Recuperação de fosfito.

| <i>Amostra dissolvida em água com adição de:</i> | <i>Recuperação (%)</i> |
|--|-------------------------------|
| 10,0 10^{-4} % (m/v) P- PO_4 | 98 |
| 20,0 10^{-4} % (m/v) P- PO_4 | 94 |
| 0,05% (m/v) H_3PO_3 | 100 |
| 0,20% (m/v) H_3PO_3 | 95 |
| 0,05% (m/v) H_3PO_3 + 10,0 10^{-4} % (m/v) P- PO_4 | 99 |

Pelos resultados de recuperação do analito apresentados na Tabela 4, pode-se concluir que o sistema FIA apresenta boa exatidão, mas estudos complementares de análise de amostras reais também foram feitos.

5.3.9.4 Análise das amostras comerciais

A exatidão do método também foi avaliada pela análise de 8 amostras de fertilizantes líquidos comerciais injetadas em triplicata após simples diluição em água. Os sinais transientes referentes às soluções analíticas de fosfito e as amostras estão representados na Fig. 28. Os resultados obtidos foram concordantes com amperometria em fluxo (Tabela 5). Aplicando-se o teste *F* pôde-se concluir que não houve diferença significativa entre as precisões para o nível de confiança de 95%; e aplicando-se o teste *t* concluiu-se que houve diferença significativa na exatidão entre as médias dos resultados dos dois métodos apenas para 2 amostras ao nível de confiança de 95%. Portanto, o sistema proposto pode ser uma alternativa simples para a determinação de fosfito no controle de qualidade de amostras comerciais em curto tempo e com baixo consumo de reagentes.

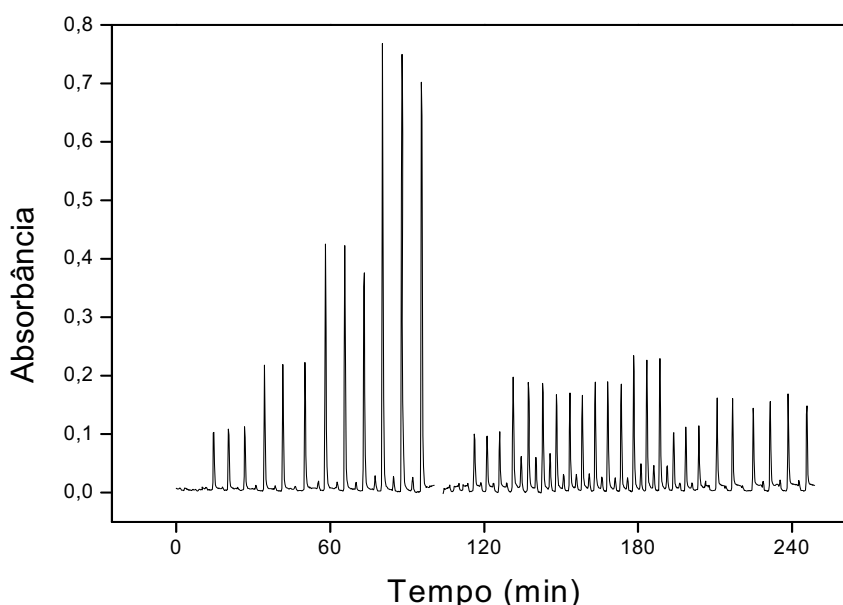


Figura 28. Sinais transientes obtidos com o sistema FIA da Fig. 4 para a determinação de fosfito e fosfato. Os sinais da esquerda para a direita correspondem às absorbâncias obtidas em triplicata para soluções analíticas (0,05 a 0,40% m/v H_3PO_3) seguidas de amostras de fertilizante, sendo os sinais menores correspondentes ao teor de fosfato presente nas amostras e os sinais maiores correspondentes ao teor de fosfito mais fosfato, ambos para a alça de amostragem de 20 cm de comprimento (100 μ L).

Tabela 5. Resultados comparativos (média \pm intervalo de confiança da média) da determinação por injeção em fluxo de fosfito [% (m/m) P₂O₅] em fertilizantes líquidos.

| <i>Amostra P[*]</i> | <i>Método proposto</i> | <i>Amperometria</i> |
|------------------------------|------------------------|---------------------|
| 20 | 18,9 \pm 1,3 | 19,0 \pm 1,6 |
| 28 | 27,8 \pm 2,1 | 24,6 \pm 1,7 |
| 30 | 28,5 \pm 2,3 | 30,8 \pm 1,3 |
| 35 | 35,4 \pm 2,7 | 33,6 \pm 2,7 |
| 40 | 40,4 \pm 3,2 | 39,5 \pm 2,4 |
| 20 | 19,5 \pm 1,5 | 19,1 \pm 1,2 |
| 28 | 30,2 \pm 2,3 | 24,8 \pm 1,1 |
| 28 | 29,8 \pm 2,6 | 27,2 \pm 1,8 |

*Valores fornecidos pelo fabricante e expressos em % (m/m) P₂O₅.

5.3.9.5 Velocidade analítica, consumo de reagentes e amostra

Para o cálculo da velocidade analítica fez-se o registro do sinal transiente em alta velocidade a partir da solução analítica de fosfito 0,10% (m/v) H₃PO₃ utilizando a alça de amostragem de 20 cm de comprimento. A Fig. 29 ilustra o sinal transiente registrado em alta velocidade que possibilitou conhecer o tempo médio de residência ($T_r = 1,25$ minuto) e o tempo de limpeza ($T_w = 2,75$ minutos) que foram utilizados para estimar a frequência analítica (f), admitindo 2% de “carryover” para o T_w . Portanto, a frequência analítica estimada para o sistema de fluxos representado na Fig. 4 foi 15 determinações por hora o que corresponde a um consumo médio de 4,3 mg de permanganato de potássio, 135 mg de molibdato de amônio, 27 mg de ácido ascórbico, 260 mg de ácido sulfúrico e 100 μ L de amostra por determinação.

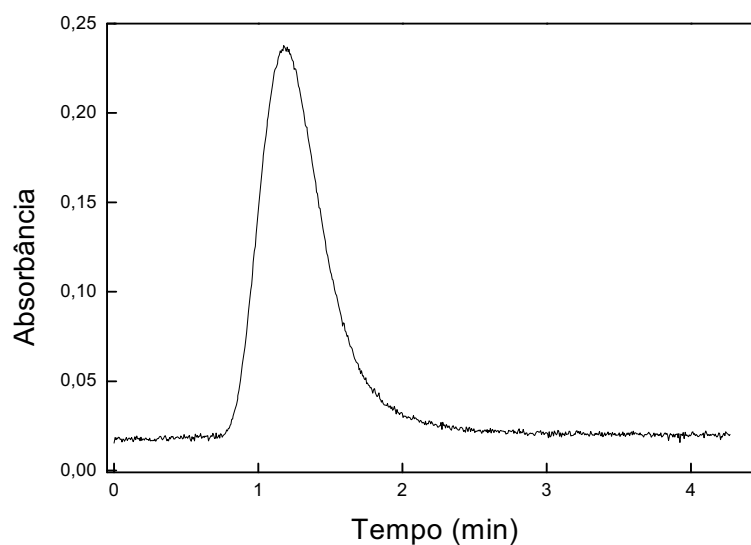


Figura 29. Ilustração de um sinal transiente registrado em alta velocidade com seus respectivos T_r e T_w .

5.3.9.6 Dispersão

A dispersão do sistema FIA da Fig. 4 também foi investigada. A Fig. 30 ilustra o registro dos sinais transientes da solução analítica 0,10% (m/v) H_3PO_3 variando-se o comprimento da alça de amostragem no intervalo de 10 a 250 cm. Observa-se um aumento do sinal transiente com o aumento da alça de amostragem, indicando diminuição da dispersão da zona da amostra, para valores acima de 250 cm, pois houve a formação de um patamar no sinal transiente, indicando uma situação próxima a condição de volume infinito, ou seja, situação na qual não há dispersão. O grau de dispersão foi avaliado através do coeficiente de dispersão (D).

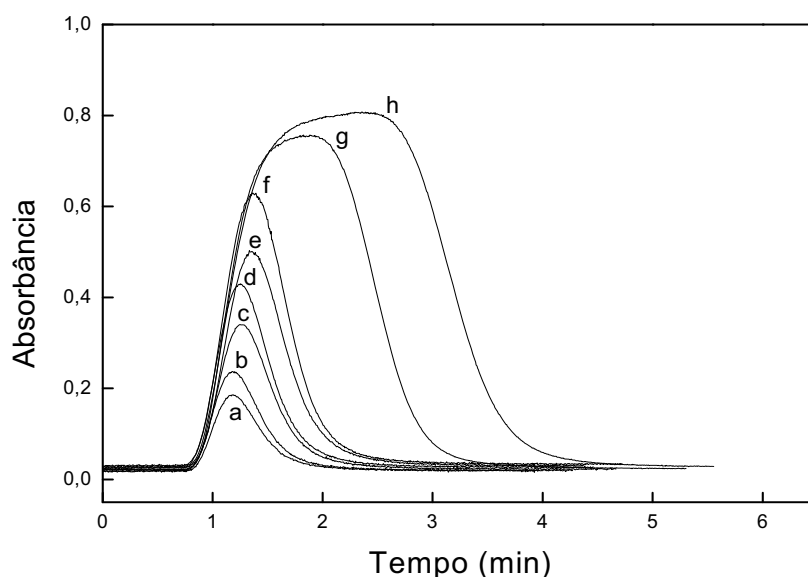


Figura 30. Sinais transientes obtidos com o sistema FIA da Fig. 4 a partir da solução analítica de fosfito 0,10% (m/v) H_3PO_3 utilizando alças de amostragem 10 cm (a); 20 cm (b); 30 cm (c); 40 cm (d); 50 cm (e); 70 cm (f); 160 cm (g) e 250cm (h).

Para o sistema FIA otimizado a alça de amostragem definida foi 20 cm, sendo o valor de coeficiente de dispersão (D) calculado igual a 3,4, indicando que há dispersão média⁴⁵ para esse sistema de fluxos.

Uma expressão que relaciona o sinal obtido e o volume de amostra injetado é dada por:

$$\frac{A}{A_0} = 1 - 2^{\left(-\frac{V}{V_{0,5}}\right)}$$

na qual A é a absorbância, A_0 é a absorbância obtida em condições de volume infinito, V é o volume injetado e $V_{0,5}$ é o volume injetado que proporciona um sinal de 50% do sinal obtido em condições de volume infinito.

A obtenção de $V_{0,5}$ foi feita a partir da relação $\frac{A}{A_0}$ vs V_{injetado} , o qual está representado na Fig. 31. A análise da figura mostra que o valor de $V_{0,5}$ encontrado foi 193 μL e conhecendo o valor de $V_{0,5}$ foi possível estimar valores de absorbância para diferentes volumes injetados. Para o sistema FIA otimizado e representado na Fig.

3 o volume injetado é 100 μL , portanto o valor de absorvância estimado foi 0,240 sendo concordante com o valor de absorvância da curva analítica de calibração. A expressão que relaciona o sinal obtido e o volume de amostra injetado seria:

$$\frac{0,240}{0,800} = 1 - 2^{(-100/193)}$$

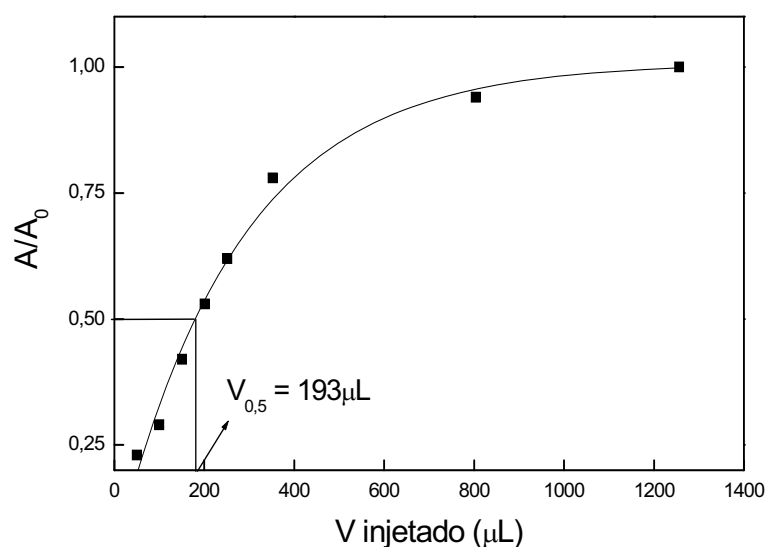


Figura 31. Gráfico de resposta do volume injetado sobre a razão A/A_0 para a solução analítica 0,10% (m/v) H_3PO_3 .

Após feito todos os estudos, as condições operacionais e as características analíticas do método estão representadas na Tabela 6.

Tabela 6. Características do método

| Condições Operacionais | |
|--|--|
| Comprimento de onda (λ) | 700 nm |
| Vazão: | |
| Amostra (A) | 3,0 mL min ⁻¹ |
| Carregador (C) | 0,9 mL min ⁻¹ |
| Reagentes (R ₁ , R ₂ , R ₃ , R ₄) | 0,9 mL min ⁻¹ |
| Comprimento Bobinas (B ₁ , B ₂ , B ₃) | 50, 30, 100 cm |
| Soluções Analíticas | 0,05 – 0,40% (m/v) H ₃ PO ₃ |
| Quantidade de Amostra | 100 μ L |
| Características Analíticas | |
| Relação entre A vs [H ₃ PO ₃] | $A_{700\text{ nm}} = 0,0182 + 1,86585 [\text{H}_3\text{PO}_3]$ |
| Coeficiente de correlação linear (r^2) | 0,99912 |
| Limite de detecção (L.O.D.) | 9,64 10 ⁻⁴ % m/v H ₃ PO ₃ |
| Limite de quantificação (L.O.Q.) | 32,1 10 ⁻⁴ % m/v H ₃ PO ₃ |
| r.s.d. | $\leq 3,6\%$ |
| Velocidade Analítica | 15 determinações/hora |
| Consumo dos reagentes/medida | |
| Permanganato de potássio | 4,3 mg |
| Molibdato de amônio | 135 mg |
| Ácido ascórbico | 27 mg |
| Ácido sulfúrico | 260 mg |

6. TRATAMENTO DOS RESÍDUOS

Todos os procedimentos descritos a seguir foram conduzidos em capela de boa exaustão e empregando-se equipamentos de proteção individual (avental, luvas e óculos de segurança). As soluções de ácido sulfúrico foram neutralizadas com NaOH. Utilizou-se papel indicador para controlar tal neutralização. Em seguida, a solução final foi descartada lentamente na pia sob água corrente em abundância. Os agentes oxidantes (permanganatos e molibdatos) foram reduzidos por hipossulfito de sódio; o excesso de hipossulfito foi destruído com H_2O_2 e foi diluído a 3% e descartado em tambores apropriados que se encontram no Depósito de Resíduos do IQAr, de onde faz a destinação final dos resíduos gerados nesta unidade.

7. CONCLUSÃO

O método analítico proposto é o primeiro método disponível que permite determinar fosfito em amostras de fertilizante na presença de fosfato sem interferência.

A limitação do método será para amostras que contiverem teores de fosfato acima de 2,5% (m/m) P-PO₄.

A adição intermitente de reagente permitiu determinar fosfito e fosfato seqüencialmente, ou seja, sem a troca manual do oxidante pela solução ácida de ácido sulfúrico, para determinar fosfato⁷⁵.

A dissolução direta das amostras comerciais em H₂O permitiu que estas sejam analisadas diretamente por espectrofotometria.

O método apresenta-se prático, rápido, de baixo custo relativo e pode ser uma alternativa para a determinação de fosfito e fosfato em laboratório de controle de qualidade.

8. REFERÊNCIAS

- 1 MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. p. 130-140.
- 2 ALMEIDA, M. I. G. S.; SEGUNDO, M. A.; LIMA, J. L. F. C.; RANGEL, A. O. S. S. Multi-syringe flow injection system for the determination of available phosphorus in soil samples. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 85, n. 1, p. 51-62, 2005.
- 3 KATZ, M. Spoon-feeding phosphorus. **Citrograph**, v. 81, n. 5, 1996.
- 4 DANIEL, T. C.; SHARPLEY, A. N.; LEMUNYON, J. L. Agricultural phosphorus and eutrophication: a symposium overview. **Journal of Environmental Quality**, v. 27, p. 251-257, 1998.
- 5 TOMÉ JR., J. B. **Manual para interpretação de análise de solo**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 1997. 247 p.
- 6 COMO aplicar um fertilizante. Disponível em: <<http://www.jardimdasflores.com.br/Jardinagem/A07fertilizante>>. Acesso em: 08 nov. 2006.
- 7 ALBULQUERQUE, G. S. Fertilizantes na Iberoamérica. In: REUNIÃO DA REDE TEMÁTICA SOBRE FERTILIZANTES EM IBEROAMÉRICA, 2001, Santo Domingo. Disponível em: <http://w3.cetem.gov.br/cytec-xiii/det_proyectosyredes.htm#proyectos>. Acesso em: 08 nov. 2006.
- 8 DIAS, L. E.; FERNANDEZ, L. Q. P.; BARROS, N. F. DE; NOVAES, R. F. DE; MORAES, E. J. DE; DANIELS, W. L. Availability of phosphorus in a Brazilian oxisol cultivated with eucalyptus after nine years as influenced by phosphorus fertilizer source, rate and placement. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 31, n. 7, p. 837-847, 2000.
- 9 BELTRÁN, R. R.; SILVEIRA, R. I.; PASSOS, M. J. Disponibilidade de fósforo para plantas de arroz avaliada por extratores químicos. **Scientia Agrícola**, v. 55, n. 2, p. 233-241, 1998.

- 10 NEVES, E. M.; DAYOUB, M.; DRAGONE, D. S.; NEVES, M. F. Citricultura brasileira: efeitos econômicos-financeiros, 1996-2000. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 432-436, 2001.
- 11 SAINDRENAN, P.; BACHIETTO, T.; BOMPEIX, G. Modification of the phosphite induced resistance response in leaves of cowpea infected with phytophthora - cryptogea by alpha - aminooxyacetate. **Plant Science**, v. 58, n. 2, p. 245-252, 1998.
- 12 SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite - evidence for both direct and indirect modes of action on phytophthora spp in plants. **Phytopathology**, v. 79, n. 9, p. 921-926, 1989.
- 13 AFEK, U.; SZTEJNBERG, A. Effects of fosetyl-Al and phosphorus - acid on scoparone, a phytoalexin associated with resistance of citrus to phytophthora - Citrophthora. **Phytopathology**, v. 79, n. 7, p. 736-739, 1989.
- 14 HARTRIDGE, H.; ROUGHTON, F. J. W. Method of measuring the velocity of very rapid chemical reactions. **Proceedings Royal Society**, v. 104A, p. 376-394, 1923.
- 15 CHANCE, B. The accelerated-flow method for rapid reactions. Part II. Design, construction and tests. **Journal of the Franklin Institute**, v. 229, p. 737-766, 1940.
- 16 CHANCE, B. Rapid and sensitive spectrophotometry. Part I. Accelerated and stopped-flow methods for the measurement of the reaction kinetics and spectra of unstable compounds in the visible region of the spectrum. **Review of Scientific Instruments**, v. 22, p. 619-627, 1951.
- 17 SKEGGS JR., L. T. Persistence and prayer: from the artificial kidney to the autoanalyser. **Clinical Chemistry**, v. 46, n. 9, p. 1425-1436, 2000.
- 18 SKEGGS JR., L. T. An automatic method for colorimetric analysis. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 28, n. 3, p. 311-322, 1957.
- 19 GRADY, H. J.; LAMAR, M. A. Glucose determination by automatic chemical analysis. **Clinical Chemistry**, v. 5, p. 542-550, 1959.

- 20 BLAEDEL, W. J.; HICKS, G. P. Continuous analysis by measurement of the rate of catalyzed reactions. Glucose determination. **Analytical Chemistry**, v. 34, p. 388-394, 1962.
- 21 KRUG, F. J.; MORTATTI, J.; PESSENDA, L. C. R.; ZAGATTO, E. A. G.; BERGAMIN FILHO, H. Flow injection spectrophotometric determination of boron in plant material with azomethine-H. **Analytica Chimica Acta**, v. 125, p. 29-35, 1981.
- 22 RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection analysis. Part I. New concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 78, n. 1, p. 145-157, 1975.
- 23 FANG, Z. **Flow injection separation and preconcentration**. New York: VCH, 1993. 259 p.
- 24 REIS, B. F.; JACINTHO, A. O.; MORTATTI, J.; KRUG, F. J.; ZAGATTO, E. A. G.; BERGAMIN, H.; PESSENDA, L. C. R. Zone-sampling processes in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 123, p. 221-228, 1981.
- 25 FATIBELLO FILHO, O.; NOBREGA, J. A.; SANTOS, A. J. M. G. Flow injection potentiometric determination of saccharin in dietary products with relocation of filtration unit. **Talanta**, v. 41, n. 5, p. 731-734, 1994.
- 26 ARRUDA, M. A. Z.; ZAGATTO, E. A. G.; MANIASSO, N. Kinetic determination of cobalt and nickel by flow-injection spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 283, n. 1, p. 476-480, 1993.
- 27 BERGAMIN FILHO, H.; ZAGATTO, E. A. G.; KRUG, F. J.; REIS, B. F. Merging zones in flow injection analysis. Part 1. Double proportional injection and reagent consumption. **Analytica Chimica Acta**, v. 101, n. 1, p. 17-23, 1978.
- 28 BERGAMIN FILHO, H.; REIS, B. F.; JACINTHO, A. O.; ZAGATTO, E. A. G. Ion exchange in flow injection analysis. Determination of ammonium ions at the $\mu\text{g L}^{-1}$ level in natural waters with pulsed Nessler reagent. **Analytica Chimica Acta**, v. 117, p. 81-89, 1980.

29 ZAGATTO, E. A. G.; BERGAMIN FILHO, H.; BRIENZA, S. M. B.; ARRUDA, M. A. Z.; NOGUEIRA, A. R. A.; COSTA LIMA, J. L. F. Multi-site detection in flow analysis. Part 1. Relocation of spectrophotometric detector. **Analytica Chimica Acta**, v. 261, n. 1/2, p. 59-65, 1992.

30 GOMES NETO, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A.; BERGAMIN FILHO, H.; ZAGATTO, E. A. G.; COSTA LIMA, J. L. F.; MONTENEGRO, M.; CONCEIÇÃO, B. S. M. Multi-site detection in flow analysis. Part 3. Periodate tubular electrode with low inner volume as a relocatable detector. **Analytica Chimica Acta**, v. 285, n. 3, p. 293-299, 1994.

31 GOMES NETO, J. A.; ZARA, L. F.; SANTOS, A.; ROCHA, J. C.; CARDOSO, A. A. Reversible intermittent flow-injection determination of mercury in sediments and vinasses by cold vapor atomic absorption spectrometry. **Laboratory Robotics and Automation**, v. 11, p. 304, 1999.

32 KRUG, F. J.; BERGAMIN FILHO, H.; ZAGATTO, E. A. G. Commutation in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 179, p. 103-118, 1986.

33 BURGUERA, M.; BURGUERA, J. L.; ALARCON, O. M. Flow injection and microwave-oven sample decomposition for determination of copper, zinc, and iron in whole blood by atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 179, p. 351-357, 1986.

34 OLIVEIRA, C. C.; ZAGATTO, E. A. G.; ARAUDJO, A. N.; COSTA LIMA, J. L. F. Sample preparation in sequential injection analysis. Spectrophotometric determination of total phosphorus in food samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 371, n. 1, p. 57-62, 1998.

35 REIS, B. F. Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento. **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 51-57, 1996.

36 REIS, B. F.; MARTELLI, P. B.; MENEGÁRIO, A. A.; GINÉ, M. F. Sistema de análise química por injeção em fluxo controlado por microcomputador para diluição automática em espectrometria de absorção atômica. **Química Nova**, v. 16, n. 2, p. 109-112, 1993.

37 REIS, B. F.; GINÉ, M. F. A análise química por injeção em fluxo contínuo. **Química Nova**, v. 12, n. 1, p. 82-91, 1989.

- 38 DIAS, A. C. B. **Sistemas de análises químicas em fluxo explorando multi-impulsão e detecção espectrofotométrica**: aplicação a formulações farmacêuticas e a extratos de solos. 2006. 128 f. Tese (Doutorado em Química na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
- 39 PRADOS-ROSALES, R. C.; LUQUE-GARCIA, J. L.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Propelling devices: the heart of flow injection approaches. **Analytica chimica Acta**, v. 461, n. 2, p. 169-180, 2002.
- 40 MIRO, M.; CERDA, V.; ESTELA, J. M. Multisyringe flow injection analysis: characterization and applications. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 199-210, 2002.
- 41 KORENAGA, T.; ZHOU, X.; MORIWAKE, T.; MURAKI, H.; NAITO, T.; SANUKI, S. Computer-controlled micropump suitable for precise microliter delivery and complete in-line mixing. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 1, p. 73-78, 1994.
- 42 LAPA, R. A. S.; LIMA, J. L. F. C.; REIS, B. F.; SANTOS, J. L. M.; ZAGATTO, E. A. G. Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities. **Analytica Chimica Acta**, v. 466, n. 1, p. 125-132, 2002.
- 43 WEEKS, D. A.; JOHNSON, K. S. Solenoid pumps for flow injection analysis. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 15, p. 2717-2719, 1996.
- 44 RIBEIRO, M. F. T.; SANTOS, J. L. M.; LIMA, J. L. F. C. Piezoelectric pumping in flow analysis: application to the spectrophotometric determination of gabapentin. In: INTERNATIONAL CONFERENCE FLOW ANALYSIS, 10 th, 2006, Porto. **Book of abstracts**. Porto: [s.n.], 2006. p. 102.
- 45 RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. **Flow injection analysis**: chemical analysis. 2nd ed. New York: Wiley Interscience, 1988. 498 p.
- 46 REIS, B. F.; GINÉ, M. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. S. Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, v. 293, n. 1/2, p. 129-138, 1994.

- 47 SANSEVERINO, A. M. Química verde: uma nova filosofia. **Ciência Hoje**, v. 31, n. 185, p. 21-27, 2002.
- 48 SANSEVERINO, A. M. Síntese orgânica limpa. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 102, 2000.
- 49 RUZICKA, J.; MARSHALL, G. D. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 237, n. 2, p. 329-343, 1990.
- 50 IVASKA, A.; RUZICKA, J. From flow injection to sequential injection: comparison of methodologies and selection of liquid drives. **The Analyst**, v. 118, n. 7, p. 885-889, 1993.
- 51 CERDA, V.; ESTELA, J. M.; FORTEZA, R.; CLADERA, A.; BECERRA, E.; ALTIMIRA, P.; SITJAR, P. Flow techniques in water analysis. **Talanta**, v. 50, n. 4, p. 695-705, 1999.
- 52 ALBERTUS, F.; HORSTKOTTE, B.; CLADERA, A.; CERDA, V. A robust multisyringe system for process flow analysis. Part I. On-line dilution and single point titration of photolytes. **The Analyst**, v. 124, n. 9, p. 1373-1381, 1999.
- 53 RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection analysis: from beaker to microfluidics. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 5, p. 212-217A, 2000.
- 54 GRUDPAN, K. Some recent developments on cost-effective flow-based analysis. **Talanta**, v. 64, n. 5, p. 1084-1090, 2004.
- 55 LIU, Y. Z.; KIM, B. J.; SUNG, H. J. Two-fluid mixing in a microchannel. **International Journal of Heat and Fluid Flow**, v. 25, n. 6, p. 986-995, 2004.
- 56 CHAPIN, T. P.; WANTY, R. B. Development of a solenoid pumped in situ zinc analyser for environmental monitoring. **Analytica Chimica Acta**, v. 543, n. 1/2, p. 199-208, 2005.

- 57 RODENAS-TORRALBA, E.; MORALES-RUBIO, A.; GUARDIA, M. de la. Determination of phenols in waters using micro-pumped multicommutation and spectrophotometric detection: an automated alternative to the standard procedure. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 383, n. 1, p. 138-144, 2005.
- 58 KOLTHOFF, I. M.; SANDELL, E. B.; MEEHAN, E. J.; BRUCKENSTEIN, S. **Quantitative chemical analysis**. 4th ed. New York: Macmillan, 1969. 565 p.
- 59 HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. 669 p.
- 60 MIZUTANI, F.; YABUKI, S.; SATO, Y.; SAWAGUCHI, T.; IJIMA, S. Amperometric determination of pyruvate, phosphate and urea using enzyme electrodes based on pyruvate oxidase-containing poly(vinyl alcohol)/polyion complex-bilayer membrane. **Electrochimica Acta**, v. 45, n. 18, p. 2945-2952, 2000.
- 61 MOUSTY, C.; COSNIER, S.; SHAN, D.; MU, S. L. Trienzymatic biosensor for the determination of inorganic phosphate. **Analytica Chimica Acta**, v. 443, n. 1, p. 1-8, 2001.
- 62 SHIMIZU, Y.; ISHIKAWA, A.; ISEKI, K.; TAKASE, S. Perovskite-type oxide-based electrode: a new sensor for hydrogen-phosphate ion. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 147, n. 10, p. 3931-3934, 2000.
- 63 TRASATTI, S.; ALBERTI, A. Anodic oxidation mechanism of hypophosphorous and phosphorous acid on palladium. **Journal Electroanalytical Chemistry**, v. 12, n. 3, p. 236-249, 1966.
- 64 ITO, H. A.; OLIVEIRA, M. F. DE; GOMES NETO, J. A.; STRADIOTTO, N. R. Eletrodo modificado em filme de paládio para a determinação voltamétrica de fosfito. **Eclética Química**, v. 27, p. 161-168, 2002. Número especial.
- 65 FRANZINI, V. P.; FUGIVARA, C. S.; RIBEIRO, C. A.; CAVALHEIRO, E. T. G.; GOMES NETO, J. A. Direct determination of phosphite in fertilizer by flow-injection chronoamperometry. In: INTERNATIONAL CONFERENCE FLOW ANALYSIS, 10 th, 2006, Porto. **Book of abstracts**. Porto: [s.n.], 2006. p. 166.

66 BIESAGA, M.; TROJANOWICZ, M. Phosphorus speciation in nickel plating baths by ion chromatography. **Journal of Chromatography, A**, v. 705, n. 2, p. 390-395, 1995.

67 ROOS, G. H. P.; LOANE, C.; DELL, B.; HARDY, G. E. S. Facile high performance ion chromatographic analysis of phosphite and phosphate in plant samples. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 30, n. 17/18, p. 2323-2329, 1999.

68 QUATTROCCHI, O.; FRISARDI, L.; IGLESIAS, M.; NOYA, M.; CAPUTTO, M.; FERRARIS, D.; SILIPRANDI, D.; PICCINNI, E. Ion exchange chromatographic determination of olpadronate, phosphate, phosphite, chloride and methanesulfonic acid. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 24, n. 5/6, p. 1011-1018, 2001.

69 MORTON, S. C.; GLINDEMANN, D.; WANG, X.; NIU, X.; EDWARDS, M. Analysis of reduced phosphorus in samples of environmental interest. **Environmental Science Technology**, v. 39, n. 12, p. 4369-4376, 2005.

70 DOPICO-GARCIA, M. S.; LÓPEZ-VILARIÑO, J. M.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. V. Determination of antioxidants by solid-phase extraction method in aqueous food simulants. **Talanta**, v. 66, n. 5, p. 1103-1107, 2005.

71 HANRAHAN, G.; SALMASSI, T. M.; KHACHIKIAN, C. S.; FOSTER, K. L. Reduced inorganic phosphorus in the natural environment: significance, speciation and determination. **Talanta**, v. 66, n. 2, p. 435-444, 2005.

72 SCHOETTER, S.; ANGELES-WEDLEL, D.; KREUZIG, R.; SCHNUG, E. Effects of phosphite on phosphorus supply and growth of corn (*Zea mays*). **Landbauforschung Volkenrode**, v. 56, n. 3/4, p. 87-99, 2006.

73 FRANZINI, V. P.; GOMES NETO, J. A. Método titrimétrico para determinar fosfito em amostras agroindustriais. **Química Nova**. No prelo.

74 MARCZENKO, Z. **Separation and spectrophotometric determination of elements**. Chichester: Ellis Horwood, 1986. p. 447-456.

75 ITO, H. A.; GOMES NETO, J. A.; FERNANDES, K. G.; MORAES, M. DE; CARDOSO, A. A. Spectrophotometric determination of phosphite in fertilizers in a flow injection system with online sample preparation. **Laboratory Robotics and Automation**, v. 12, n. 6, p. 286-290, 2000.

76 BARCO, R. A.; PATIL, D. G.; XU, W.; KE, L.; KHACHIKIAN, C. S.; HANRAHAN, G.; SALMASSI, T. M. The development of iodide-based methods for batch and on-line determinations of phosphite in aqueous samples. **Talanta**, v. 69, n. 5, p. 1292-1299, 2006.

77 BASSET, J.; DENNEY, R. C.; JEFFERY, G. H.; MENDHAM, J. **Análise inorgânica quantitativa**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1981. 368 p.

78 KAUFMAN, J. A. **Waste disposal in academic institutions**. Chelsea: Lewis, 1997. 192 p.

79 DICKMAN, S. R.; BRAY, R. H. Colorimetric determination of phosphate. **Analytical Chemistry**, v. 12, p. 665-668, 1940.

80 MOTOMIZU, S.; LI, Z. H. Trace and ultratrace analysis methods for the determination of phosphorus by flow-injection techniques. **Talanta**, v. 66, n. 2, p. 332-340, 2005.

81 COMMISSION ON SPECTROCHEMICAL AND OTHER OPTION PROCEDURES FOR ANALYSIS. Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis - II. Data interpretation. **Spectrochimica Acta**, v. 33B, p. 241, 1978.

82 CAULCUTT, R.; BODDY, R. **Statistics for analytical chemists**. New York: Chapman and Hall, 1983.