

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA

EVILIM MARTINEZ DE OLIVEIRA

**ANÁLISE DE FERTILIZANTES NPK POR ESPECTROSCOPIA RAMAN E
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA E MOLECULAR**

ARARAQUARA

2023

EVILIM MARTINEZ DE OLIVEIRA

Análise de fertilizantes NPK por Espectroscopia Raman e Espectrometria de Absorção
Atômica e Molecular

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

Orientador: Prof. Dr. José Anchieta Gomes
Neto

Araraquara

2023

O48a Oliveira, Evilim Martinez de
Análise de fertilizantes NPK por espectroscopia Raman e espectrometria de absorção atômica e molecular / Evilim Martinez de Oliveira. -- Araraquara, 2023
87 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara
Orientador: José Anchieta Gomes Neto

1. Espectroscopia de absorção atômica. 2. Espectroscopia Raman. 3. Fertilizantes. 4. Nitrogênio. 5. Calibração. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

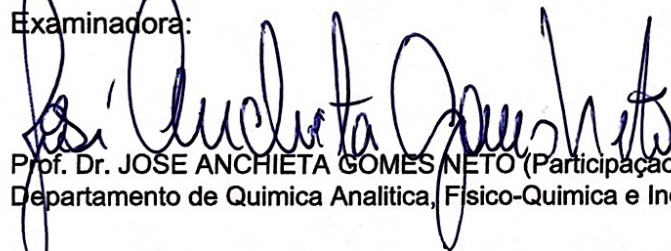
Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

"Análise de fertilizantes NPK por Espectroscopia Raman e Espectrometria de
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Absorção Atômica e Molecular"

AUTORA: EVILIM MARTINEZ DE OLIVEIRA**ORIENTADOR: JOSE ANCHIETA GOMES NETO**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Química, pela Comissão
Examinadora:



Prof. Dr. JOSE ANCHIETA GOMES NETO (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. GEORGE LUIS DONATI (Participação Virtual)
Departamento de Química / Wake Forest University - WFU - Estados Unidos

Prof. Dr. MARCOS YASSUO KAMOGAWA (Participação Virtual)
Departamento de Química / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP - Piracicaba

Araraquara, 28 de março de 2023

DADOS CURRICULARES

1. IDENTIFICAÇÃO

1.1. NOME:

Evilim Martinez de Oliveira

1.2. DATA DE NASCIMENTO:

11 de fevereiro de 1998

1.3. NACIONALIDADE:

Brasileira

1.4. NATURALIDADE:

Santa Lúcia - SP

1.5. FILIAÇÃO:

Vitor Augusto de Oliveira

Marcia Aparecida Martinez de Oliveira

1.6. NOME EM CITAÇÃO BIBLIOGRÁFICA:

OLIVEIRA, E. M.; OLIVEIRA, EVILIM M.; OLIVEIRA, EVILIM MARTINEZ;
OLIVEIRA.

2. ENDEREÇO PROFISSIONAL

2.1. Instituto de Química – Campus de Araraquara

Rua Professor Francisco Degni, 55 – Quitandinha – Araraquara/SP

CEP: 14800-060

Telefone: (16) 3301-9738

3. FORMAÇÃO ACADÊMICA

3.1. Graduação em Licenciatura em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Química,
campus Araraquara

Período: 02/2016 – 03/2021

3.2. Mestrado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Química,
campus Araraquara

Período: 02/2021 – 03/2023

4. PUBLICAÇÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Artigos completos publicados em periódicos

- 4.1.1. OLIVEIRA, EVILIM M.; ROGERO, MARÍLIA; FERREIRA, EDILENE C.; GOMES NETO, JOSÉ A. Simultaneous determination of phosphite and phosphate in fertilizers by Raman spectroscopy. SPECTROCHIMICA ACTA PART A-MOLECULAR AND BIOMOLECULAR SPECTROSCOPY, v. 246, p. 119025, 2021. doi: 10.1016/j.saa.2020.119025

- 4.1.2. OLIVEIRA, EVILIM M.; FERREIRA, EDILENE C.; GOMES NETO, JOSÉ A.; DONATI, G. L.; JONES, T. B.** Raman spectroscopy coupled to high-resolution continuum source flame molecular absorption spectrometry for sequential determination of nitrogen species in fertilizers. *SPECTROCHIMICA ACTA PART A-MOLECULAR AND BIOMOLECULAR SPECTROSCOPY*, v. 283, p. 121737, 2022. doi: 10.1016/j.saa.2022.121737
- 4.1.3. MARQUES, D. G; OLIVEIRA, E. M.;** Degradação de fármacos por processos oxidativos avançados baseados em fotólise de H₂O₂ (H₂O₂/UV). *Technology Science*, v. 4, n. 1, p. 1 – 11, 2022. doi: 10.6008/CBPC2674-6425.2022.001.0001
- 4.1.4. TRAVERSA, LEONARDO. C.; BIAGI, JOÃO VICTOR. S.; OLIVEIRA, EVILIM M.; FERREIRA, EDILENE C.; VIRGILIO, ALEX; GOMES NETO, JOSÉ A.** Closed-Vessel Conductively Heated Digestion System for the Elemental Analysis of Agricultural Materials by High-Resolution Continuum Source Flame Atomic Absorption Spectrometry (HR-CS FAAS), 2023. doi: 10.1080/00032719.2023.2174133

4.2. Resumos publicados em anais de eventos

- 4.2.1. OLIVEIRA, E. M; GOMES NETO, J. A. ; FERREIRA, EDILENE C.** Avaliação da Espectroscopia Raman para determinar sulfato em fertilizantes utilizando calibração multiponto com padrão único (SS-MPC). In: *Congreso Argentino de Química Analítica, 2021, Corrientes. Libro de Resúmenes XI Congreso Argentino de Química Analítica, 2021. v. 1. p. 164.*
- 4.2.2. OLIVEIRA, E. M.; GOMES NETO, JOSÉ A. ; FERREIRA, EDILENE C.** Identificação e determinação simultânea de compostos de nitrogênio em fertilizantes por Espectroscopia Raman. In: *Congresso Online Nacional de Química, 2022, Rio de Janeiro. Anais do IV Congresso Online Nacional de Química - IV CONDEQUI, 2022.*

4.3. Apresentações de trabalhos

- 4.3.1. OLIVEIRA, E. M.; GOMES NETO, J. A. ; FERREIRA, EDILENE C.** Identificação e determinação simultânea de espécies de nitrogênio por Espectroscopia Raman em fertilizantes. *IV Congresso Online de Química, 2022.*
- 4.3.2. OLIVEIRA, E. M.; GOMES NETO, J. A. ; FERREIRA, EDILENE C.** Avaliação da Espectroscopia Raman para determinar sulfato em fertilizantes utilizando calibração multiponto com padrão único (SS-MPC). *XI Congreso Argentino de Química Analítica, 2021, Currientes, Argentina.*
- 4.3.3. OLIVEIRA, E.M; BEGO, A; ALVES, M; GOMES NETO, J.A.** Uma proposta de Unidade Didática Multiestratégica para o ensino de princípios da espectroscopia em uma abordagem CTS. *XVIII Evento de Educação em Química (EVEQ), 2021, Araraquara – SP.*

4.3.4. OLIVEIRA, E. M.; GOMES NETO, J. A. Estratégia para determinação de fosfato e fosfito em meio aquoso por Espectroscopia Raman visando análises de fertilizantes. XV Analítica Latin América, 2019, São Paulo – SP.

4.3.5. OLIVEIRA, E. M.; GOMES NETO, J. A. Estudo dos equilíbrios dos ácidos fosfórico e fosforoso em meio aquoso por Espectroscopia Raman visando análise em fertilizantes. XXX Congresso de Iniciação Científica, 2018, Araraquara – SP.

4.3.6. OLIVEIRA, E. M.; ROMERO, J. H. S. Propriedades ópticas e estruturais de hidróxidos duplos lamelares hidratados $[Zn_2Al_{1-x}M_x(OH)_6]NO_3 \cdot xH_2O$ ($M = Eu^{3+}$, Tb^{3+}) e de seus produtos de combustão. XXVII Congresso de Iniciação Científica, 2015, Araraquara – SP.

4.4. Demais produções

4.4.1. OLIVEIRA, EVILIM M.; ALVES, M.; BEGO, A.M; GOMES NETO, J. A. O que tem nessa água? A espectroscopia explica! Repositório Institucional da UNESP, objeto educacional, 2022.

5. Participação em bancas

5.1. OLIVEIRA, E. M. Compôs a banca avaliadora dos projetos da VI Feira de Ciências, Arte e Cultura do IFSP, campus Matão. 2021. Instituto Federal de São Paulo.

6. Outros

6.1. Professora voluntária de Álgebra no Cursinho Popular Geração NEAR, período de 2020 à 2021.

6.2. Professora voluntária de Química no Cursinho Popular Geração NEAR, no período de 2021 à 2022.

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais,
por serem meu porto seguro.
Com todo amor, dedico-lhes este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter provido todas as bênçãos em minha vida e por ter me dado sabedoria para vivê-las.

Agradeço aos meus pais por serem meus maiores exemplos e incentivadores e por terem me ajudado em cada obstáculo que encontrei no caminho. Eu os amo e sem vocês eu não teria conseguido.

Agradeço ao meu irmão João, por sempre ter sido minha inspiração. Obrigada por sempre acreditar em mim.

Agradeço ao meu namorado Octávio, por não medir esforços em me ajudar no que fosse preciso, e por nunca me deixar desistir ou fraquejar. Você foi essencial nesse processo.

Agradeço a minha família por sempre terem me dado todo o suporte e apoio necessário, por sempre terem incentivado os meus sonhos e me ajudado a conquistá-los. Obrigada por todo o amor e ensinamentos dados em cada etapa da minha vida.

Agradeço especialmente a minha prima Thaís (*in memoriam*) por ter me mostrado o verdadeiro significado de amor pela vida. Sua memória sempre será meu ponto de força nos dias difíceis.

Agradeço aos meus amigos do Grupo de Espectroanalítica e Automação, Raiane, João, Caroline, Maísa e Rayane por todas as conversas, discussões científicas, apoios e troca de experiências. Obrigada por serem a minha família científica.

Aos meus amigos Thiago e Thalia, pelos conselhos, conversas, risadas e suporte emocional. Obrigada por serem tão presentes.

Agradeço à professora Edilene por compartilhar seus conhecimentos e experiências, e por contribuir para a minha formação como licenciada e como mestre.

Agradeço ao professor José Anchieta, que me orientou durante a Iniciação Científica e o Mestrado, e por sempre ter me ensinado a ser uma profissional melhor. Obrigada por todas as discussões, incentivo e ensinamentos.

Agradeço aos professores que tive o privilégio de conhecer durante a minha trajetória. Em especial aos professores João H. Romero, Alex Carvalho, Rudinei Martins, Carla Grassi, Adriana Paiva, Débora Franciscatto, Shirley Perissinoto e José Biazotto. Todos vocês foram minhas inspirações e me moldaram enquanto profissional. Obrigada por nunca desistirem da educação pública.

Ao Instituto de Química da UNESP, por todo o suporte e infraestrutura fornecida para o desenvolvimento deste trabalho e pelas oportunidades de aprendizado e crescimento profissional.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal e de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Nothing in life is to be feared, it is only to be understood”

Marie Curie

RESUMO

Neste trabalho combinou-se a HR-CS FAAS e a Espectroscopia Raman no desenvolvimento de um sistema de análise em fluxo para a determinação de N, P e K em fertilizantes. O acoplamento das técnicas permitiu identificar e determinar nitrato, ureia, fosfito, fosfato e potássio. A Espectroscopia Raman possibilitou especiar e determinar quantitativamente N (ureia e nitrato) e P (fosfato e fosfito). A HR-CS FAAS permitiu a determinação total de N, P e K nas linhas de NO em 215,247 nm, de PO em 247,620 nm e de K em 344,738 nm. O método foi validado por meio de análise de materiais de referência certificados, adição de padrão e recuperação e comparação com métodos oficiais (Kjeldahl para N; espectrofotometria de UV-Vis para P, espectrometria de emissão atômica em chama para K). Os resultados obtidos pelo método proposto foram concordantes ao nível de 95% de confiança com os valores certificados dos materiais de referência e com aqueles obtidos pelos métodos oficiais. E as recuperações se situaram entre 87 a 105%. Os limites de detecção para fosfato, fosfito, ureia e nitrato obtidos por Espectroscopia Raman foram 0,02, 0,01, 0,01 e 0,01 mg g⁻¹, respectivamente. E os limites calculados para P, N e K para a técnica HR-CS FAAS foram 0,01, 0,03 e 0,01 mg g⁻¹, respectivamente. Novos métodos de calibração denominados *Single Standard Multi-Point Calibration* e *Single Standard Two-Point Calibration* foram propostos para a Espectroscopia Raman. As calibrações com único padrão se baseiam na variação de um parâmetro operacional (potência do laser ou tempo de aquisição do sinal) para gerar diferentes sinais analíticos e, portanto, uma curva de calibração. A proposta foi aplicada na determinação de N (ureia e nitrato) e de P (fosfato e fosfito) em fertilizantes, e os resultados foram concordantes ao nível de 95% de confiança com os valores certificados de materiais de referência e com os obtidos pelos métodos oficiais (Kjeldahl para N; Espectrofotometria de UV-Vis para P). O intervalo das recuperações foi de 91 a 119% (SS-MPC) e 82 a 110% (SS-TPC). Os limites de detecção para fosfato, fosfito, ureia e nitrato foram, respectivamente 0,01, 0,03, 0,01 e 0,02 mg g⁻¹ (SS-MPC) e 0,02, 0,02, 0,01 e 0,01 mg g⁻¹ (SS-TPC).

Palavras-chave: Espectroscopia de Absorção Atômica; Espectroscopia Raman; Fertilizante; Nitrogênio; Calibração.

ABSTRACT

In this work HR-CS FAAS and Raman Spectroscopy were combined in the development of a flow analysis system for the determination of N, P and K in fertilizers. The coupling of the techniques allowed the identification and determination of nitrate, urea, phosphite, phosphate and potassium. Raman Spectroscopy made it possible to speciate and quantitatively determine N (urea and nitrate) and P (phosphate and phosphite). HR-CS FAAS allowed the total determination of N, P and K as NO lines at 215.247 nm, PO at 247.620 nm and K at 344.738 nm. The method was validated by analysis of certified reference materials, standard addition and recovery and comparison with official methods (Kjeldahl for N; UV-Vis spectrophotometry for P, flame atomic emission spectrometry for K). The results obtained by the proposed method were in agreement at the 95% confidence level with the certified values of the reference materials and with those obtained by official methods. And the recoveries were between 87 and 105%. The detection limits for phosphate, phosphite, urea and nitrate obtained by Raman Spectroscopy were 0.02, 0.01, 0.01 and 0.01 mg g⁻¹, respectively. And the calculated limits of detection for P, N and K determined by HR-CS FAAS were 0.01, 0.03 and 0.01 mg g⁻¹, respectively. New calibration methods called Single Standard Multipoint Calibration and Single Standard Two-point Calibration have been proposed for Raman Spectroscopy. Single standard calibrations are based on varying an instrument operational parameter (laser power or signal acquisition time) to generate different analytical signals and thus a calibration curve. The new method was applied to the determination of N (urea and nitrate) and P (phosphate and phosphite) in fertilizers, and the results were concordant at 95% confidence level with certified values of reference materials and with those obtained by official methods (Kjeldahl for N; UV-Vis spectrophotometry for P). The range of recoveries was 91 to 119% (SS-MPC) and 82 to 110% (SS-TPC). The detection limits for phosphate, phosphite, urea and nitrate were 0.01, 0.03, 0.01 and 0.02 mg g⁻¹ (SS-MPC) and 0.02, 0.02, 0.01 and 0.01 mg g⁻¹ (SS-TPC), respectively.

Keywords: Atomic Absorption Spectroscopy; Raman Spectroscopy; Fertilizers; Nitrogen; Calibration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de espalhamento da luz por Espectroscopia Raman.....	23
Figura 2. Comparação dos níveis de energia para os espalhamentos Raman Rayleigh, Stokes e Anti-Stokes.	24
Figura 3. Aparato usado por Lockyer para medidas de absorção atômica: (A) espectroscópio com prisma, (B) atomizador, (C) tubo de ferro inserido em um forno alimentado com carvão, (D) lâmpada elétrica de fonte contínua e (E) dispositivo Kipp utilizado para gerar hidrogênio..	26
Figura 4. Configuração de um espectrômetro de absorção com fonte contínua e de alta resolução com atomização em chama (HR-CS FAAS): (1) lâmpada de arco curto de xenônio; (2) espelhos; (3) atomizador; (4) sistema óptico; (5) detector do tipo CCD..	28
Figura 5. Gráficos que exemplificam a SS-MPC indicados em (a) sinal da amostra em função da concentração, (b) sinal do padrão em função da sua concentração e (c) curva de SS-MPC plotada pelo sinal da amostra em função do sinal do padrão..	31
Figura 6. Representação gráfica da área do trapézio obtida para o cálculo de calibração com dois pontos com único padrão (área do trapézio).	33
Figura 7. Influência da variação da potência do laser (A) e do tempo de integração (B) no espalhamento Raman de uma solução 0,50 mol L ⁻¹ em H ₃ PO ₄	39
Figura 8. Distribuição das espécies de H ₃ PO ₄ em função do pH.	40
Figura 9. Distribuição das espécies de H ₃ PO ₃ em função do pH..	41
Figura 10. Comportamento dos espectros Raman das espécies de (a) ácido fosfórico 1,0 mol L ⁻¹ e (b) ácido fosforoso 1,0 mol L ⁻¹ . Condições instrumentais: 50% da potência do laser; 30 s integração.....	41
Figura 11. Comportamento dos espectros Raman das espécies de (a) nitrato de sódio 0,25 mol L ⁻¹ , (b) sulfato de sódio 0,25 mol L ⁻¹ e (c) uréia 0,25 mol L ⁻¹ . Condições instrumentais: 50% da potência do laser; 30 s integração.....	42
Figura 12. Espectros Raman das espécies de fosfato (—), fosfito (—), nitrato (—), ureia (—) e sulfato (—) empregando: pH = 1,0; 50% da potência do laser; 30 s de integração do sinal..	43
Figura 13. Espectros de espalhamento Raman das amostras de fertilizantes analisadas, enumeradas de 1 à 10, e as respectivas identificações das fontes de N e P por meio da atribuição das bandas...	45
Figura 14. Espalhamento Raman de solução de H ₃ PO ₃ 0,5 mol L ⁻¹ pura (—), e na presença de 0,1 mol L ⁻¹ de NaCl (—); 1,0 mol L ⁻¹ de NaCl (—) e 2,0 mol L ⁻¹ de NaCl (—).	47

Figura 15. Gráfico de barras da comparação entre os espalhamentos integrados das soluções padronizadas de fosfato, fosfito, nitrato e ureia e dos espalhamentos integrados das respectivas amostras nas mesmas condições de concentração e pH.	48
Figura 16. Espectro de espalhamento Raman de soluções padrões de fosfato (ácido fosfórico) 1% (v v ⁻¹) (—) e fosfito (ácido fosforoso) 1% (v v ⁻¹) (—) em pH = 1,0.	49
Figura 17. Curvas de calibração <i>Single Standard Multi-Laser Power Calibration</i> para nitrogênio (A) e fósforo (B) adquirida com soluções padrões de concentração (a) 0,25; (b) 0,33; (c) 0,50; (d) 0,75 e (e) 1,0 % (m m ⁻¹) de N e P, respectivamente, e amostras de 0,50% (m m ⁻¹) de N e P respectivamente, em um intervalo da potência máxima do laser de 10 à 100%.....	51
Figura 18. Coeficientes angulares das curvas de calibração SS-MLPC em função do número de pontos da curva empregado padrão de 0,25 (a), 0,33, (b) 0,50, (c) 0,75, (d) 1,0 mol L ⁻¹ (e) de N (A) e P (B).....	56
Figura 19. Desvio padrão de uma solução de P 0,50% (m m ⁻¹) em função da potência aplicada do laser.....	58
Figura 20. Distribuição da área normalizada e seus respectivos desvios padrão para uma solução padronizada de P 0,50% (m m ⁻¹).	58
Figura 21. Curva de calibração SS-MLPC.....	60
Figura 22. Calibração externa para (A) nitrato (1045 cm ⁻¹); (B) ureia (1000 cm ⁻¹); (C) fosfito (2340 cm ⁻¹) e (D) fosfato (850 cm ⁻¹).	65
Figura 23. Curvas de resposta para amônio (A), nitrato (B), ureia (C) e fosfato (D) obtidas por HR-CS FAAS em pH = 1, 4 e 7..	71
Figura 24. Curvas de calibração para fosfato (—) e fosfito (—) obtidas em meio 0% H ₂ O ₂ (A), 2,5% H ₂ O ₂ (C), 5% H ₂ O ₂ (E) e 10% H ₂ O ₂ (G), e para nitrato (—), ureia (—) e amônio (—) em 0% H ₂ O ₂ (B), 2,5% H ₂ O ₂ (D), 5% H ₂ O ₂ (F) e 10% H ₂ O ₂ (H).	72
Figura 25. Curvas analíticas para N (A), P (B) e K (C) obtidas por e por HR-CS AAS (N, P e K) em meio 5% (v v ⁻¹) H ₂ O ₂ e pH = 1.	73
Figura 26. Diagrama do sistema de fluxos desenvolvido e utilizado para as determinações de N, P e K em fertilizantes. S: amostra em pH = 1; R: solução 10% v v ⁻¹ H ₂ O ₂ ; números entre parênteses: vazão em mL min ⁻¹ ; P: bomba peristáltica; a: ponto de confluência; FC: célula de fluxo; B: bobina de mistura; W: descarte.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros operacionais otimizados dos espectrômetros Raman e de Absorção Atômica e Molecular de fonte contínua com alta resolução.	36
Tabela 2. Atribuição das bandas de fosfato e fosfito por Espectroscopia Raman.....	42
Tabela 3. Atribuição das bandas de espalhamento Raman para as espécies de N, P e S.	44
Tabela 4. Relação de amostras de fertilizantes NPK e suas composições químicas.	46
Tabela 5. Integração das regiões espectrais dos espectros das soluções de fosfato e fosfito ambas em 1,0% (v v ⁻¹) de P puras a pH 1,0 e razão entre as regiões de fosfato.	50
Tabela 6. Integração das regiões espectrais do espectro da mistura de fosfato e fosfito ambos 1,0% (v v ⁻¹) de P a pH 1,0 e estimativa da área referente a espécie de fosfito.....	50
Tabela 7. Recuperações de N e P obtidas por <i>Single Standard Multi-Laser Power Calibration</i> . Curva plotada com 10 pontos, correspondendo à faixa de potência do laser de 10-100%.	52
Tabela 8. Análise de Variância para as regressões SS-MLPC de N e P em todas as condições de concentração do padrão analítico.....	52
Tabela 9. Recuperação de N de P para curvas SS-MLPC com diferentes quantidades de pontos.	53
Tabela 10. Teste t não pareado para comparação entre médias ao nível de 95% de confiança para curvas de calibração SS-MLPC em diferentes faixas de calibração para N e P.....	54
Tabela 11. Relações entre as variações das concentrações dos padrões utilizados na calibração SS-MLPC e os coeficientes angulares das retas.....	55
Tabela 12. Recuperações de P (% , m m ⁻¹) obtidas em diferentes faixas de calibração e réplicas.	57
Tabela 13. Determinação de N e P em fertilizantes líquidos por SS-MLPC.....	62
Tabela 14. Resultados referente à validação de SS-MLPC de N por Kjeldahl e P por Espectrofotometria e seus referentes valores de t calculado e t tabelado considerando o nível de 95% de confiança.....	62
Tabela 15. Determinação de N e P em fertilizantes líquidos por SS-TPC.....	64
Tabela 16. Resultados referente à validação de SS-TPC de N por Kjeldahl e P por Espectrofotometria e seus referentes valores de t calculado e t tabelado considerando o nível de 95% de confiança.....	64
Tabela 17. Determinação de N e P em fertilizantes NPK por Calibração Externa.	67
Tabela 18. Resultados referente à validação de EC de N por Kjeldahl e P por Espectrofotometria e seus referentes valores de t calculado e t tabelado considerando o nível de 95% de confiança.....	67

Tabela 19. Limite de Detecção e Limite de Quantificação dos métodos EC, SS-MLPC e SS-TPC para Fosfato, Fosfito, Nitrato e Ureia em Espectroscopia Raman.	69
Tabela 20. Resultados da determinação de P, N e K em amostras simuladas por HR-CS FAAS empregando o sistema de fluxos proposto.....	76
Tabela 21. Determinação de N, P e K por análise em fluxo de amostras de fertilizantes em acoplamento RS – HR-CS FMAS. Teores totais expressos em % ($m\ m^{-1}$) e respectivas recuperações (%) entre parênteses.....	78
Tabela 22. Recuperações de N (%) em amostras nitrogenadas	78
Tabela 23. Resultados referente à validação de FA pelos métodos comparativos Kjeldahl, Espectrofotometria e Fotometria de Chama e seus valores de t calculado. $t_{crit} = 2,92$, considerando o nível de 95% de confiança e $gl = 4$	79
Tabela 24. Limite de Detecção e Limite de Quantificação (mg/g) das técnicas Raman e HR-CS FAAS para Fosfato, Fosfito, Nitrato e Ureia (Espectroscopia Raman) e NO, PO, K (HR-CS FAAS) calculados de acordo com as recomendações da IUPAC.	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica (do inglês Atomic Absorption Spectrometry)
ANDA	Agência Nacional de Difusão de Adubos
ANOVA	Análise de Variância (do inglês Analysis of Variance)
CHDS	Sistema de digestão assistida por aquecimento condutivo (do inglês, Conductively heated digestion system)
CS AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com fonte contínua (do Inglês Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry)
EC	Calibração Externa (do inglês External Standard Calibration)
FA	Análise em fluxo (do inglês Flow Analysis)
HCL	Lâmpada de catodo oco (do inglês Hollow cathode lamp)
HR-CS FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em chama com fonte continua de alta resolução (do inglês High Resolution Continuum Source Flame Atomic Absorption Spectrometry)
LIBS	Espectroscopia de emissão óptica induzida por laser (do inglês Laser Induced Breakdown Spectroscopy)
LOD	Limite de Detecção (do inglês Limit of Detection)
LOQ	Limite de Quantificação (do inglês Limit of Quantification)
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MEC	Calibração Multi-energia (do inglês Multi-energy calibration)
MFC	Calibração Multi-fluxo (do inglês Multi-flow calibration)
MICal	Calibração Multi isotópica (do inglês Multi-isotope calibration)
MSC	Calibração Multi-espécies (do inglês Multispecies calibration)
NPK	Nitrogênio, fósforo e potássio
OP-MVC	Calibração com um ponto e multi-voltagem (do inglês One-Point and Multi-Voltage Calibration)
pH	Potencial Hidrogeniônico
PIB	Produto Interno Bruto
PNF	Plano Nacional de Fertilizantes
SDA	Análise por diluição de padrão (do inglês Standard Dilution Analysis)
SNR	Razão sinal ruído (do inglês Signal-to-noise Ratio)
SS-MPC	Calibração multiponto com único padrão (do inglês Single Standard Multi-Point Calibration)
SS-MLPC	Calibração Multi Potência do Laser com único padrão (do inglês Single Standard Multi-Laser Power Calibration)
SS-TPC	Calibração com dois pontos com único padrão (do inglês Single Standard Two-Point Calibration)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1. Fertilizantes NPK	20
2.2. Espectroscopia Raman	22
2.3. Espectrometria de Absorção Atômica em chama com fonte contínua e de alta resolução (HR-CS FAAS)	25
2.4. Calibração com único padrão	29
3. OBJETIVOS	34
3.1. Objetivo Geral.....	34
3.2. Objetivos Específicos	34
4. METODOLOGIA.....	35
4.1. Instrumentação	35
4.2. Reagentes e soluções	36
4.3. Procedimento experimental	37
4.4. Análise dos resultados e validação analítica.....	37
4.5. Tratamento de resíduos.....	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	39
5.1. Otimização dos parâmetros operacionais do espectrômetro Raman.	39
5.2. Comportamento das espécies de N ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, NH_4^+ e NO_3^-) e P (PO_4^{3-} e HPO_3^{2-}) em função do pH.....	39
5.3. Análise Qualitativa	44
5.4. Análise Quantitativa.....	46
5.4.1. Avaliação do efeito da força iônica	46
5.4.2. Eliminação da interferência de bandas sobrepostas.....	48
5.4.3. Calibração com padrão único	50
5.4.4. Calibração Multiponto com padrão único (SS-MPC).....	59
5.4.5. Calibração com único padrão com dois pontos (SS-TPC).....	63
5.4.6. Calibração externa (EC).....	65
5.4.7. Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ).....	68
5.5. Análise em Fluxo.....	70
5.5.1. Otimização instrumental para análise em HR-CS FAAS.....	70
5.5.2. Acoplamento Espectrometria Raman - HR-CS FAAS.....	74
5.5.3. Análise qualitativa e quantitativa	75
6. CONCLUSÃO.....	80
REFERÊNCIAS.....	81

1. INTRODUÇÃO

A produção agrícola brasileira tem se destacado, nos últimos anos, no cenário nacional e internacional, devido seu crescimento contínuo. Além disso, segundo a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, em 2021 o agronegócio contribuiu com 27,4% do PIB nacional (TECH AGRO, 2022), e o setor agrícola responde pelo suprimento da crescente demanda por alimentos e biomassa.

Porém, o seu desenvolvimento precisa vir acompanhado de um aumento na eficiência do uso da terra. Em parte do país, as propriedades agrícolas estão localizadas em regiões de difícil expansão de suas áreas agricultáveis, e dessa maneira, aumentar a produtividade das lavouras é a solução de maior alcance para melhorar a eficiência econômica da cadeia produtiva sem aumentar a área utilizada para plantio. Os fertilizantes constituem uma importância eminente neste contexto. Segundo estimativas da Associação Nacional para a Difusão de Adubos (ANDA), o Brasil importou em 2022 cerca de 37,7 milhões de toneladas de fertilizantes NPK a fim de suprir a demanda nacional (ANDA, 2022).

Os fertilizantes NPK possuem em suas formulações nitrogênio, fósforo e potássio e são amplamente utilizados por serem uma importante fonte desses macronutrientes primários. A indústria agrícola tem se tornado extremamente dependente do uso desses insumos para atender a demanda crescente por alimentos e garantir cultivos saudáveis. No entanto, o consumo crescente e descontrolado dessas fontes pode gerar sérios problemas ambientais como contaminação da água, do ar, do solo, desaparecimento de espécies animais e vegetais, além de profundas mudanças climáticas (BRASIL, 2016). Então, mesmo considerando o fato de que os fertilizantes constituem um importante fator de produção, o seu uso indiscriminado pode contribuir com o acúmulo de nutrientes nos ecossistemas terrestres e aquáticos, podendo alterar a biodiversidade (CBD, 2010).

Ao longo dos anos, o Brasil construiu uma forte dependência em relação às matérias primas internacionais, como consequência da falta de uma política para o setor, que refletiu no decréscimo de cerca de 30% da indústria nacional, e do aumento das importações em cerca de 66% nos últimos 20 anos. Ainda, os custos dos fertilizantes na produção foram alavancados, alcançando mais de 40% em culturas como soja, milho e algodão nesse período (BRASIL, 2021). Recentemente esse cenário se tornou preocupante, uma vez que a Rússia se afigura entre os principais fornecedores de fertilizantes ao país, e a recente ofensiva russa no território ucraniano acarretou em uma série de reações internacionais como embargos econômicos (NASTARI, 2022).

Dessa forma, considerando a importância do setor agrícola para a economia brasileira e dos fertilizantes na produção de alimentos, a busca por melhoria contínua dos sistemas produtivos na agricultura considera relevante um controle eficiente da qualidade dos fertilizantes para promover segurança em uma cadeia produtiva complexa e diversificada, como a do agronegócio brasileiro.

O desenvolvimento de novos métodos de determinação de N, P e K em fertilizantes que sejam, além de precisos e exatos, rápidos, simples e limpos afigura-se como promissor. E em função da demanda crescente por métodos e procedimentos sustentáveis baseados nos princípios da Química Verde, o emprego de técnicas analíticas rápidas, eficientes e de baixo impacto ambiental vem crescendo.

Os principais métodos disponíveis para determinar N, P e K em fertilizantes envolvem a determinação de N total por Kjeldhal (ALMEIDA et al., 2016), de N (nitrato) por espectrofotometria (KEITH; MUELLER; SMITH, 1990), de P por gravimetria ou espectrometria e K por espectrofotometria de emissão atômica em chama (MAPA, 2017).

No entanto, as análises de rotina de fertilizantes NPK podem ser substancialmente simplificadas e melhoradas utilizando-se técnicas analíticas simples e robustas, como a Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua (HR-CS AAS) e a Espectroscopia Raman. Neste trabalho é proposto um novo método de determinação de N, P e K em fertilizantes combinando a HR-CS AAS e a Espectroscopia Raman em um sistema de análise em fluxo (FA), para assim, expandir as potencialidades dessas técnicas no desenvolvimento de um novo método analítico que permita identificar e quantificar as espécies de N (amônio, nitrato e ureia), P (fosfato e fosfito) e quantificar K em fertilizantes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Fertilizantes NPK

Segundo o Decreto nº 4954 e definição do MAPA, fertilizantes são compostos minerais ou orgânicos, naturais ou sintéticos, fornecedores de um ou mais nutrientes para as plantas. Esses nutrientes podem ser macro ou micronutrientes, e apresentam a característica de aumentar a fertilidade dos solos com a finalidade de melhorar a produtividade das culturas.

Desde o início da implementação desses insumos no Brasil, o consumo de fertilizantes aumentou consideravelmente. Esse aumento está relacionado à alta demanda por maiores produtividades, além de desempenhar um importante papel no desenvolvimento econômico do país por favorecer a competitividade do setor. Nesse cenário, o Brasil apresenta um importante papel, sendo o quarto maior produtor mundial de grãos, sendo responsável por cerca de 7% a 8% da produção global. Além disso, segundo dados do MAPA, em 2020 o agronegócio foi responsável por 18% do total das exportações brasileiras (BRASIL, 2021).

Logo, o forte desenvolvimento da agricultura no Brasil faz com que os fertilizantes se tornem insumos muito importantes. Especificamente sobre os fertilizantes NPK, os insumos a base de nitrogênio, fósforo e potássio são amplamente utilizados e têm grande relevância nutricional para as plantas.

O nitrogênio faz parte da composição de muitos compostos estruturais, como aminoácidos e proteínas, e é relacionado com o surgimento de brotos e folhas, além de ser essencial para as plantas (MARSCHNER, 1995). As principais fontes de N utilizadas nos insumos são uréia - $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ e sais contendo amônio e/ou nitrato (BERNARDES, 2020); os teores de nitrogênio em fertilizantes são expressos em % (m m^{-1}) de N. O fósforo, comumente oriundo de fontes de fosfato (PO_4^{3-}) e fosfite (HPO_3^{2-}) (BERNARDES, 2020), está relacionado ao estímulo à frutificação e floração da planta, e o seu teor é expresso em % (m m^{-1}) de P_2O_5 . Já o potássio age fortalecendo os tecidos vegetais, tornando-os mais resistentes à ação de pragas ou outros agentes prejudiciais. Os sais KCl , K_2SO_4 , KNO_3 são os mais comumente empregados como fonte de K (BERNARDES, 2020), e o teor deste elemento em fertilizantes é expresso em % (m m^{-1}) de K_2O .

No processo de análise dos fertilizantes, a quantificação de N por Kjeldahl – seja convertendo compostos nitrogenados a sulfato de amônio, ou reduzindo nitratos a amônia, seguida da destilação da amônia e titulação –, é muito usada por ser simples, de baixo custo e amplamente difundida. Contudo, o método consome grande quantidade de reagentes, produz quantidade significativa de resíduos e o ciclo analítico total (preparo da amostra, destilação,

titulação) é longo. Ainda, a identificação da natureza das espécies de nitrogênio comumente encontradas em fertilizantes comerciais (por exemplo, uréia, nitrato, amônio) é possível, mas os tratamentos da amostra envolvidos tornam essa tarefa trabalhosa. Os métodos espectrofotométricos também são amplamente utilizados na determinação dos íons nitratos e nitritos devido a simplicidade e aos baixos limites de detecção. Nesse contexto, a reação de Griess (KEITH; MUELLER; SMITH, 1990) é uma das mais utilizadas na qual o íon nitrito reage por acoplamento com cloridrato de N-(1-naftil) etilenodiamina formando um diazo composto de coloração vermelha, cuja absorvância medida em 540 nm é proporcional ao teor de N. Constitui um método simples, mas tem como inconvenientes a cinética lenta, o uso de reagentes carcinogênicos e de baixa estabilidade.

As principais formulações com P podem conter fosfatos ou fosfitos. A determinação de P por gravimetria se baseia na precipitação de fosfato sob a forma de $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ (ou de pirofosfato de magnésio) e há um método para determinar fosfito indiretamente via reação redox com formação de $Hg_2Cl_{2(s)}$ (HARRIS, 2012). A vantagem deste método sobre o primeiro consiste na possibilidade de empregar a amostra sem previa oxidação do fosfito a fosfato, mas apresenta a desvantagem de produzir resíduo de mercúrio. Isso contraria os princípios da Química Verde de se evitar o uso de métodos que utilizem reagentes que resultem em rejeitos de difícil descarte no meio ambiente (FRANZINI et al., 2007). No caso da oxidação de fosfito a fosfato, os procedimentos convencionais se baseiam na digestão da amostra em meio de misturas de agentes oxidantes concentrados por períodos relativamente longos. A determinação de fosfato e fosfito pode ainda ser feita por espectrofotometria (DAMETTO; FRANZINI; NETO, 2007) e em menor extensão por cromatografia (MAZZEI; SCUPPA, 2006). Ainda, a determinação elementar de P pode ser feita por espectrometria de absorção atômica (AAS) (FERREIRA et al., 2011) e por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) (BARTOS et al., 2014). Apesar da simplicidade e baixo custo relativo das técnicas clássicas e da espectrofotometria, estas apresentam como principais limitações a grande quantidade de resíduo e os longos tempos de análise (FRANZINI et al., 2007). Já as técnicas AAS e ICP-OES limitam-se à determinação elementar total, não identificam a natureza do P, se fosfito ou fosfato. Além disso, essas técnicas apresentam alto custo relativo de aquisição e de manutenção. A cromatografia líquida permite especiar fosfato e fosfito, mas os altos custos envolvidos dificultam o uso da técnica em análises de rotina para esta finalidade. Além disso, requer um analista altamente especializado e os altos teores dos sólidos totais dissolvidos – típicos de amostras de fertilizantes - limitam o desempenho dos detectores de condutividade.

A determinação de K em fertilizantes pode ser feita por espectrometria de emissão atômica em chama ou pelo método volumétrico de tetrafenilborato de sódio (MAPA, 2017). Para a determinação de K, o procedimento experimental consiste na solubilização do potássio em água e posterior medida em espectrômetro de emissão atômica em chama, sendo, portanto, relativamente simples e rápido. Já o método volumétrico de tetrafenilborato de sódio baseia-se na extração à quente do potássio solúvel em água, precipitação deste com uma quantidade em excesso de tetrafenilborato de sódio e titulação desse excesso com solução padronizada de brometo de cetiltrimetil amônio ou cloreto de benzalcônio. Este último, por sua vez, exige grande quantidade de reagentes e trabalhoso preparo de amostras, tornando-se inviável para a análise de rotina.

Posto isto, o método de análise proposto no presente trabalho visou oferecer uma alternativa simples, rápida, robusta e ambientalmente amigável, buscando alcançar essas metas por meio do acoplamento em um sistema em fluxo das Espectroscopia Raman e Espectrometria de Absorção Atômica em chama.

2.2. Espectroscopia Raman

Em 1917, Chandrasekhara Venkata Raman, utilizando a luz solar como fonte de radiação e um telescópio como coletor, conseguiu identificar o fenômeno de espalhamento da radiação que leva o seu nome (FERRARO; NAKAMOTO; BROWN, 2003). Raman percebeu que quando uma luz passa através de um meio transparente, uma fração dessa radiação era espalhada em todas as direções, com frequências que poderiam ser diferentes em relação à incidente (JAYARAMAN; RAMDAS, 1988). A descoberta foi amplamente reconhecida e Raman recebeu o prêmio Nobel de Física em 1929.

A partir disso, vários feitos marcaram a evolução da técnica a fim de se obter melhores resultados. Iniciando pela marcante busca pelo desenvolvimento de melhores fontes de excitação, que englobou a utilização de lâmpadas de vários elementos como He, Bi, Zn, mas que inicialmente apresentaram resultados insatisfatórios por suas baixas intensidades. Em 1930, lâmpadas de mercúrio passaram a ser utilizadas, o que permitiu grande progresso na melhoria do aparato instrumental. Em 1962, lasers provenientes de espécies como Ar^+ , Kr^+ e Nd-YAG passaram a ser estudados e avaliadas como fonte de radiação para o uso em Espectroscopia Raman (FERRARO; NAKAMOTO; BROWN, 2003).

Em seguida, os progressos em relação aos sistemas de detecção para medições Raman tomaram destaque, e o primeiro instrumento Raman fotoelétrico foi reportado em 1942, sendo

desenvolvido após a Segunda Guerra Mundial. Em 1960, os desenvolvimentos do sistema óptico do instrumento foram iniciados, e foi incluído o uso de monocromadores que traria uma eficiência grande na remoção da luz difusa, além de grades holográficas que aumentaram a eficiência da coleta de espalhamento Raman nos equipamentos utilizados até então (FERRARO; NAKAMOTO; BROWN, 2003). A espectroscopia, a qual conhecemos, é fruto de diversas melhorias progressivas e contínuas. Nos dias atuais, alguns equipamentos, por exemplo, permitem a aquisição dos espectros Raman com Transformada de Fourier (FT-Raman), acoplamento de microscópios, sistemas portáteis, entre outros.

Atualmente, a Espectroscopia Raman é uma das técnicas baseadas em laser que tem se destacado para fins analíticos, não apenas qualitativos, como também quantitativos. Essa técnica se baseia no uso de uma fonte de radiação monocromática, a qual ao atingir a amostra, espalha radiação de mesma energia ou de energia diferente da incidente. A pequena parcela dessa radiação que é espalhada inelasticamente, isto é, com frequência (ou comprimento de onda) diferente da incidente, resulta em informações estruturais a respeito da composição da amostra e, por consequência, pode ser usada para determinação de espécies (FARIA, 2011).

Segundo Nakamoto, Ferraro e Brown (2003), quando a amostra é irradiada por um laser, o espalhamento da luz é observado geralmente na direção perpendicular à incidente, como mostra a Figura 1.

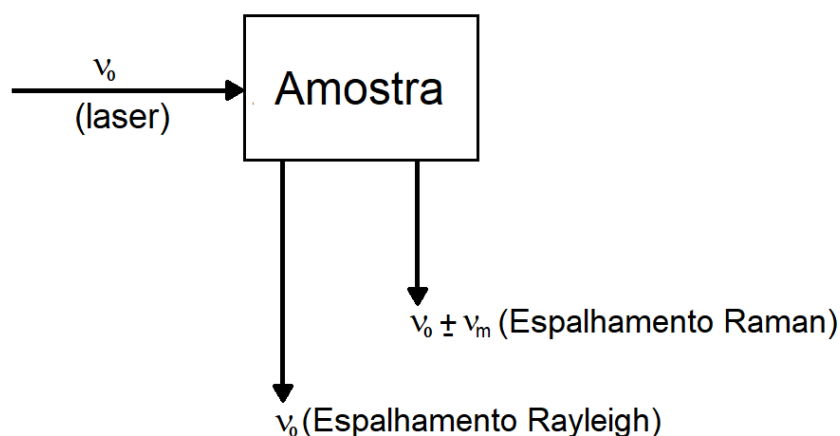


Figura 1. Mecanismo de espalhamento da luz por Espectroscopia Raman. Fonte: Adaptado de FERRARO, J. R.; NAKAMOTO, K; BROWN, 2022, p.14.

O espalhamento da luz pode ser resumido em dois tipos: o espalhamento *Rayleigh* acontece quando ocorre o espalhamento elástico, ou seja, a frequência incidida é a mesma da espalhada; e o espalhamento Raman, que apresenta uma frequência diferente da incidida, ou seja, ocorre o espalhamento inelástico.

Logo, na Espectroscopia Raman, a frequência vibracional (ν_m) é medida como um deslocamento da frequência do feixe incidente (ν_0). Assim, o espalhamento Raman pode ser *Stokes* ($\nu_0 - \nu_m$) e *Anti-Stokes* ($\nu_0 + \nu_m$), como ilustra a Figura 2 abaixo.

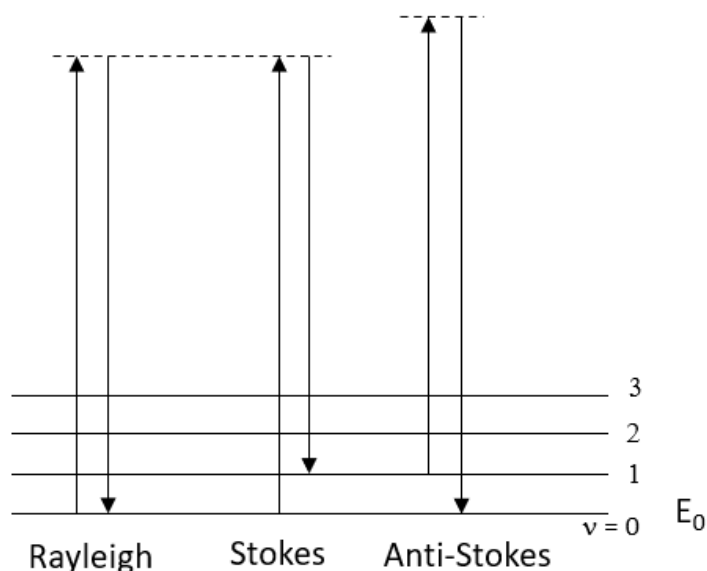


Figura 2. Comparação dos níveis de energia para os espalhamentos Raman Rayleigh, Stokes e Anti-Stokes. Fonte: Própria autora.

A Figura 2 mostra que a luz incidente provoca uma excitação dos níveis vibracionais, que saem do estado fundamental para um estado virtual, representado na imagem pelas linhas tracejadas (---). Ao retornarem aos estados vibracionais com energia maior (*stokes*) ou menor (*anti-stokes*), um detector é capaz de transformar essa informação em um espectro que compila a informação analítica desejada. Em condições normais, as linhas *stokes* são mais intensas do que as *anti-stokes*, e por apresentarem a mesma informação, então a utilização apenas da primeira é comum.

Atualmente, a técnica tem se difundido rapidamente em função de diversas características vantajosas para o procedimento analítico, tais como: a alta seletividade; possibilidade de análise direta (eliminando etapas de preparo convencional de amostra); ausência de interferência da água nos espectros; identificação simultânea de diferentes compostos (orgânicos e inorgânicos) em uma mesma medida; potencial para especificação; simplicidade operacional; alta frequência analítica; permite análises não destrutivas e no local (*in situ*) (FERRARO; NAKAMOTO; BROWN, 2003).

A Espectroscopia Raman tem sido amplamente estudada. Recentemente foi aplicada em estudos teóricos relativos a atribuições das bandas de vibração em moléculas de hipofosfito e fosfito (BICKLEY et al., 1994; TSUBOI, 1957). E mais recentemente em estudos de

identificação de diferentes espécies como: aluminatos (POUVREAU et al., 2018), CuCl/CuCl₂ (MURRIA et al., 2017), estanho (SCHMIDT, 2018), uranila e U(VI) (LU; FORBES; HAES, 2016), arsênios tiolados (YANG et al., 2018), As(III)/ As(V), Cr(III)/Cr(VI) (BARANIK et al., 2018).

Apesar das potencialidades da técnica para fins analíticos, o uso da Espectroscopia Raman para determinação de N e P em fertilizantes é escasso na literatura. Recentemente, foi proposto um método relativamente simples, rápido e robusto para a determinação simultânea de fosfato e fosfito em fertilizantes por Espectroscopia Raman (OLIVEIRA et al., 2021). O ajuste do pH das amostras em 10 permitiu utilizar bandas em 874 cm⁻¹ e 2321 cm⁻¹ para fins qualitativos e quantitativos de fosfato e fosfito, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2021).

Em suma, a técnica apresenta potencial e pode ser aplicada para fins analíticos de forma a contribuir para o desenvolvimento dos métodos que buscam melhorar os processos de produção e controle tanto de insumos como de fertilizantes NPK.

2.3. Espectrometria de Absorção Atômica em chama com fonte contínua e de alta resolução (HR-CS FAAS)

O estudo da espectroscopia e a sua relação com a evolução do conhecimento científico é notável, sobretudo a respeito da natureza da luz, cores e da identificação de elementos químicos. O primeiro fenômeno envolvendo a luz foi descrito por Isaac Newton no século XVII, que utilizando um prisma, conseguiu decompor a luz solar e identificar suas cores. Percebendo que essas cores transitavam entre o violeta e o vermelho, chamou o conjunto delas de espectro (FILGUEIRAS, 1996). Mais tarde, novos estudos comprovaram que além das cores que eram visíveis, o espectro também é composto por radiações que não são visíveis, como o infravermelho e o ultravioleta.

Nesse histórico, alguns estudiosos tiveram papéis importantes. William Wollaston descobriu que o espectro solar apresentava linhas negras sobrepostas às cores ao se trabalhar com um feixe de luz estreito. Joseph Fraunhofer, usando prismas e redes de difração, foi o primeiro a conseguir um bom espectro do sol e descobriu 576 linhas escuras nele (SANTANA et al., 2017).

Outra contribuição importante de Fraunhofer foi constatar que ao se passar a luz emitida de alguns materiais por um prisma, o resultado era de um espectro discreto e não contínuo, formado por linhas luminosas cujas energias correspondiam àquelas das linhas negras observadas no espectro solar. A partir daí, foram sendo notados os primeiros indícios de que um espectro poderia ser uma forma de identificar a composição química da matéria.

Então, em 1859 a invenção do espectroscópio permitiu um grande avanço no estudo dos espectros luminosos. Esse equipamento, associado com as leis da espectroscopia enunciadas posteriormente por Kirchhoff, tornaram possível o desenvolvimento de uma técnica eficaz e robusta para a identificação de elementos químicos através da interação dos materiais com a luz, além de permitir que novos elementos químicos pudessem ser descobertos (SANTANA et al., 2017).

O espectro de absorção para as análises químicas tomou espaço principalmente com as tentativas de se identificar a composição química dos astros (WELZ; SPERLING, 1999). Na metade do século XIX, alguns pesquisadores utilizavam instrumentos precursores, até que em 1878, Lockyer desenvolveu um instrumento completo para Espectrometria de Absorção Atômica com fonte contínua (CS AAS), o qual permitiu o estudo dos espectros de emissão e de absorção (WELZ et al., 2005). Esse espectrômetro era composto por um espectroscópio com um prisma (A) ou um espectrógrafo com um dispositivo fotográfico para permitir a aquisição dos espectros de metais; um atomizador (B); um tubo de ferro inserido em um forno (C); uma fonte de radiação (D) que compreendia uma lâmpada elétrica de fonte contínua; e um dispositivo Kipp (E) utilizado para gerar hidrogênio a fim de se obter uma atmosfera redutora no atomizador, como esboça a Figura 3 abaixo:

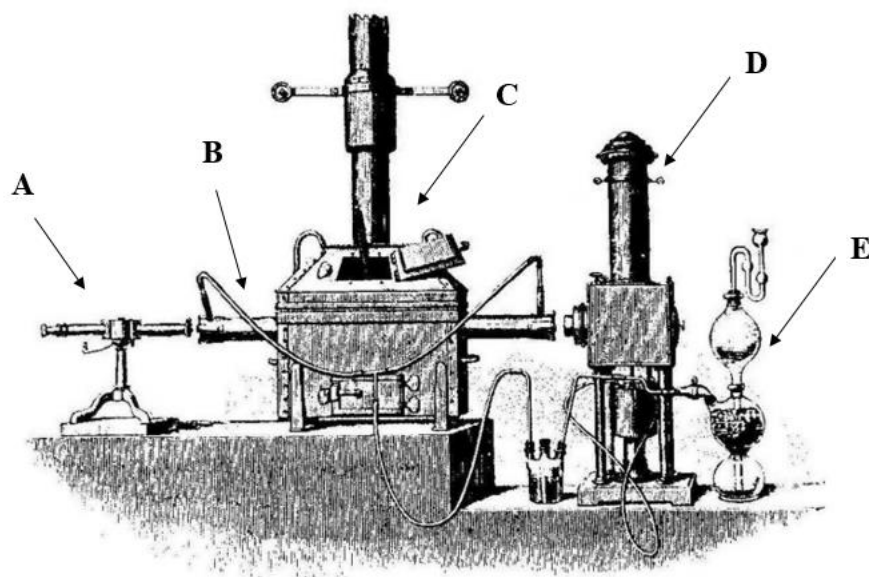


Figura 3. Aparato usado por Lockyer para medidas de absorção atômica: (A) espectroscópio com prisma, (B) atomizador, (C) tubo de ferro inserido em um forno alimentado com carvão, (D) lâmpada elétrica de fonte contínua e (E) dispositivo Kipp utilizado para gerar hidrogênio. Fonte: WELZ et al., 2005.

Inicialmente, as fontes de radiação utilizadas resumiam-se em fontes contínuas devido à grande disponibilidade e à necessidade de identificar as linhas negras do espectro contínuo,

causadas pela absorção dos elementos. Então, na primeira metade do século XX a absorção foi pouco utilizada, predominando a emissão atômica.

Em 1952, a fim de entender porque o espectro molecular era obtido em absorção e o atômico em emissão, Alan Walsh utilizou pela primeira vez a AAS para fins analíticos, usando um arranjo instrumental de fonte contínua na determinação de Cu. A partir deste momento, os resultados deste estudo foram os precursores para que novos trabalhos fossem conduzidos a fim de aumentar a sensibilidade e otimizar a instrumentação. Uma das importantes conclusões deste trabalho foi de que a medida de absorção atômica requeria de fontes de radiação que emitissem linhas de emissão mais estreitas possíveis, e assim a função do monocromador seria separar a linha analítica das demais emitidas pela fonte (WELZ et al., 2005). A AAS só passou a ser aceita como uma técnica robusta e de rotina a partir do momento em que foi introduzido ao sistema instrumental as lâmpadas de catodo oco (HCL) como fontes de radiação (WELZ; SPERLING, 1999). As lâmpadas de catodo oco são fontes de radiação discretas que emitem radiações monocromatizadas do espectro específicas para cada elemento químico. Possuem a característica de possibilitar alta sensibilidade e seletividade, baixos limites de detecção e baixos ruídos.

Apesar da AAS com fonte discreta apresentar muitas vantagens e um bom desempenho, o desenvolvimento da espectrometria de absorção atômica com fonte contínua (AAS CS) se deu a partir de meados do século XX. As primeiras publicações voltadas para o desenvolvimento da técnica ocorreram por volta de 1960, focando nas limitações do arranjo instrumental proposto por Alan Walsh, como a instabilidade e indisponibilidade das lâmpadas para alguns elementos, reiterando a potencialidade do arranjo com fonte contínua. Nos anos seguintes, muitos trabalhos enfatizaram melhorias para a técnica, como a melhora da razão sinal/ruído (SNR), a sensibilidade (WELZ et al., 2003, 2005; WELZ; SPERLING, 1999), a inclusão de grades *Echelle* de alta resolução (KELIHER; WOHLERS, 1974), entre outros. Com esses resultados, O'Haver, Harnly e colaboradores (1976) foram capazes de elaborar o primeiro espectrômetro de absorção atômica multielementar e simultâneo com fonte contínua (SIMAAC), demonstrando o potencial de aplicabilidade da técnica.

Foi só em 1996 que Becker Ross e colaboradores elaboraram um espectrômetro protótipo que atendeu às necessidades da época, operando com um monocromador duplo *Echelle*, uma lâmpada de arco de xenônio como fonte contínua de radiação e a compatibilização com a atomização por chama ou por forno de grafite (BECKER-ROSS et al., 1996)(WELZ et al., 2005). Este foi a base do primeiro espectrômetro de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução (HR-CS AAS) comercializado.

A técnica, a qual conhecemos hoje, apresenta na sua configuração um esquema como o apresentado na Figura 4. Nesse esquema, a radiação eletromagnética contínua é gerada por uma lâmpada de arco curto de xenônio (1), direcionada pelo espelho (2) aos átomos livres na chama do atomizador (3), sofrendo o fenômeno de absorção, sendo direcionada por um novo espelho ao sistema óptico (4) que é formado por um conjunto de espelhos, um prisma, uma grade de difração (*Echelle*) e um detector do tipo CCD (5). A grandeza física da medida é a absorbância e a relação entre a absorbância e a concentração é dada pela Lei de Lambert-Beer.

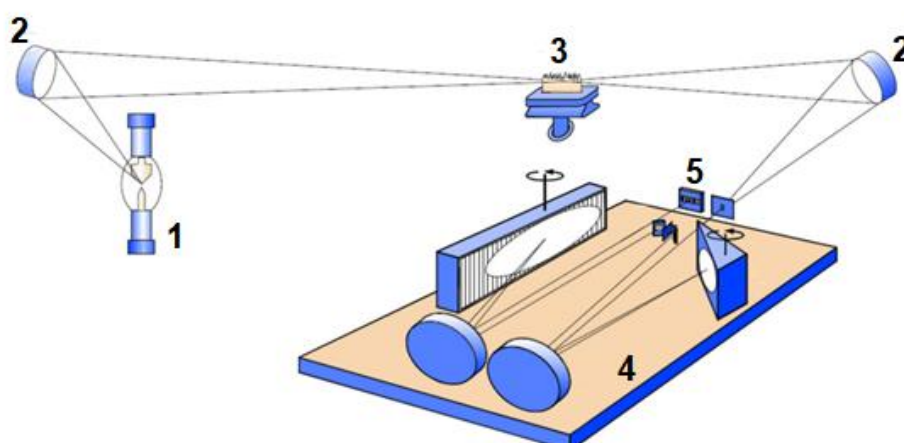


Figura 4. Configuração de um espectrômetro de absorção com fonte contínua e de alta resolução com atomização em chama (HR-CS FAAS): (1) lâmpada de arco curto de xenônio; (2) espelhos; (3) atomizador; (4) sistema óptico; (5) detector do tipo CCD. Fonte: Adaptado de WELZ et al., 2005.

Com esta técnica, é possível fazer medidas sequenciais rápidas em várias linhas, inclusive de um mesmo elemento, de forma a ajustar a sensibilidade ao problema analítico em questão. Com fonte contínua e detector de alta resolução, o acesso a linhas alternativas menos sensíveis torna-se um recurso interessante desta técnica para se medir inclusive nas ‘asas das linhas’ (registro em pixels laterais ao central). Essa possibilidade reduz ainda mais a sensibilidade, estendendo o intervalo linear de calibração e pode ser uma abordagem conveniente quando o analito está presente em uma concentração relativamente alta.

Os espectros obtidos para moléculas diatômicas geradas em chamas de ar-acetileno ou óxido nitroso-acetileno apresentam bandas com estruturas rotacionais finas que se assemelham às linhas atômicas (WELZ et al., 2005), permitindo também medições de absorção molecular (Espectrometria de Absorção Molecular em Chama de Alta Resolução com Fonte Contínua, HR-CS FMAS).

A literatura relata a avaliação de bandas de NO e PO para a determinação de N (BRANDAO et al., 2014; BRANDAO; LIMA; FERREIRA, 2012; BÜCKER; ACKER, 2012; HUANG et al., 2010) e P em diferentes amostras (BECHLIN; GOMES NETO; NÓBREGA, 2013; FERREIRA et al., 2011; HUANG et al., 2006; RESANO; BRICEÑO; BELARRA,

2009), incluindo águas, soluções ácidas utilizadas no processamento de semicondutores a base de silício, ferro fundido, amostras biológicas, fosfito de potássio e plantas medicinais. No entanto, os poucos trabalhos relativos à determinação de N têm focado na geração e detecção de moléculas de NO em atomizadores eletrotérmicos (BECHLIN et al., 2014; BECHLIN; GOMES NETO; NÓBREGA, 2013; BÜCKER; ACKER, 2012; FERREIRA et al., 2011; HEITMANN et al., 2007; HUANG et al., 2006; RESANO; BRICEÑO; BELARRA, 2009). Apesar do potencial das bandas NO para fins analíticos, pouca atenção tem sido dada ao desenvolvimento de métodos para determinação de N e de P empregando atomizadores em chamas. Trabalhos sobre análise de fertilizantes NPK por HR-CS AAS na literatura são escassos, e destaca-se um, em que foi realizada a determinação elementar quantitativa, mas não identifica a natureza das espécies de nitrogênio (se nitrato, amônio ou uréia) e fósforo (se fosfato ou fosfito) presentes na amostra (BECHLIN et al., 2014).

2.4. Calibração com único padrão

No processo analítico, a relação da concentração de um analito é normalmente obtida indiretamente pelas medidas de outras grandezas físicas como a absorção atômica, espalhamento e emissão de radiação, condutividade, pesos, volumes entre outros.

A quantificação de um analito em uma amostra é um processo comumente realizado por calibração analítica. A calibração pode ser subdividida em duas etapas, sendo a primeira conhecida como etapa descritiva, em que são realizadas medidas de soluções de concentrações conhecidas, chamadas padrões analíticos, cujos sinais são utilizados para a predição de modelos que relacione a concentração com a grandeza medida. E a segunda etapa é a preditiva, em que, utilizando o modelo estabelecido com os padrões, as concentrações das amostras a partir de seus sinais analíticos são possíveis de serem previstas (PIMENTEL, MARIA FERNANDA; NETO, 1993).

Os métodos de calibração analítica são muitos, podendo ser univariados ou multivariados. Alguns métodos convencionais podem ser resumidos em calibração externa, calibração com adição de padrão, calibração com padronização interna, calibração por compatibilização de matriz, entre outros.

No entanto, na busca por métodos mais precisos, exatos e ambientalmente amigáveis, as calibrações que utilizam um único padrão analítico têm ganhado destaque na literatura nos últimos anos. Isso se dá pelas calibrações convencionais exigirem, em sua maioria, o preparo de um grande número de soluções padrões, que reflete em um maior tempo de análise e no gasto

de um grande volume de reagentes. O uso de uma considerável quantidade de reagentes implica também no descarte e tratamento dos resíduos que serão obtidos no final da análise. Em algumas situações as calibrações convencionais apresentam a limitação de negligenciar o efeito de matriz no sinal analítico.

Nesse sentido, as calibrações que utilizam para a predição de seus modelos apenas uma solução padrão, apresentam como vantagens o menor tempo de análise, a menor geração de resíduos químicos, e sua maioria apresentam o intuito de contornar as limitações encontradas pelas calibrações convencionais.

Alguns métodos podem ser citados. A calibração por diluição de padrão (SDA, do inglês: *Standard Dilution Analysis*), utiliza apenas duas soluções padrões por amostra, e é baseada na diluição gradiente de um padrão em um único recipiente, mantendo a quantidade de amostra constante durante todo o processo de calibração (JONES *et al.*, 2015). Os métodos multi-sinais apresentam uma proposta diferente das calibrações convencionais, isso porque, assim como os métodos tradicionais, se baseiam na relação entre a resposta instrumental e a concentração do analito, porém tiram partido das dimensões associadas ao sinal analítico para além da simples concentração, que raramente são exploradas. Isso porque as intensidades dos sinais obtidos são funções de muitas variáveis que podem englobar fatores como a densidade das populações químicas, parâmetros operacionais e instrumentais a depender da técnica analítica utilizada. E nesse contexto podem ser citados os métodos *Multi-energy Calibration* (MEC), *Multi-isotope Calibration* (MICal), *Multispecies calibration* (MSC), *multi-flow calibration* (MFC) (DONATI; AMAIS, 2019).

Neste trabalho, duas propostas de calibração envolvendo o emprego de um único padrão serão abordadas para análise quantitativa por Espectroscopia Raman: Calibração Multiponto com Único Padrão (SS-MPC, do inglês: *Single Standard Multi-point Calibration*), e Calibração com Dois Pontos com Único Padrão (SS-TPC, do inglês: *Single Standard Two-point Calibration*).

A SS-TPC e a SS-MPC são construídas obtendo-se diferentes intensidades de sinal a partir de um único padrão submetido a variação de algum parâmetro operacional, de modo a produzir dois ou mais pontos, respectivamente.

Para Espectroscopia Raman, a intensidade do sinal analítico pode ser expressa por uma equação que relaciona os fatores que influenciam o espalhamento Raman (Φ_R):

$$\Phi_R \propto \sigma(\nu_{ex}) \nu_{ex}^4 E_0 n_i e^{-\frac{E_i}{kT}} \quad (\text{Eq. 01})$$

onde $\sigma(\nu_{ex})$ é a secção transversal medida em cm^2 , ν_{ex} corresponde a frequência da radiação incidida, E_0 é a irradiância da fonte de excitação, n_i trata da densidade populacional numérica

no estado i , e o termo exponencial é o fator de Boltzman no estado i (INGLE JR; CROUCH, 1988). Na prática, a intensidade medida depende da média das derivadas da polarizabilidade dos sistemas. Além desses fatores intrínsecos à técnica, também podemos inferir que a intensidade do espalhamento Raman depende diretamente da concentração das espécies ativas e de parâmetros operacionais como a potência da fonte de radiação, variando assim a irradiância (E_0) e o tempo de aquisição dos espectros. E estes podem ser variados com a finalidade de se obter diferentes sinais que se relacionam com a concentração de um analito, como propõem as calibrações com único padrão.

Esse tipo de calibração apresenta como principais vantagens não requerer o preparo de inúmeras soluções padrão para a obtenção de uma curva de calibração, sendo, portanto, mais simples e com menor geração de resíduos quando comparada a calibração externa convencional.

A SS-MPC se pauta no fato de que a intensidade do sinal analítico (S) pode ser compreendida como o produto da concentração (C) por uma constante (K). De maneira sucinta, a constante K sintetiza os parâmetros instrumentais e intrínsecos à amostra que estão relacionados à intensidade observada do sinal analítico.

Ambos os sinais apresentam uma correlação linear quando em função da concentração, como ilustra a Figura 5a e 5b. A curva de SS-MPC corresponde ao gráfico plotado com os diferentes sinais obtidos para a amostra em função dos diferentes sinais obtidos para o padrão, que também apresentam uma correlação linear (Figura 5c).

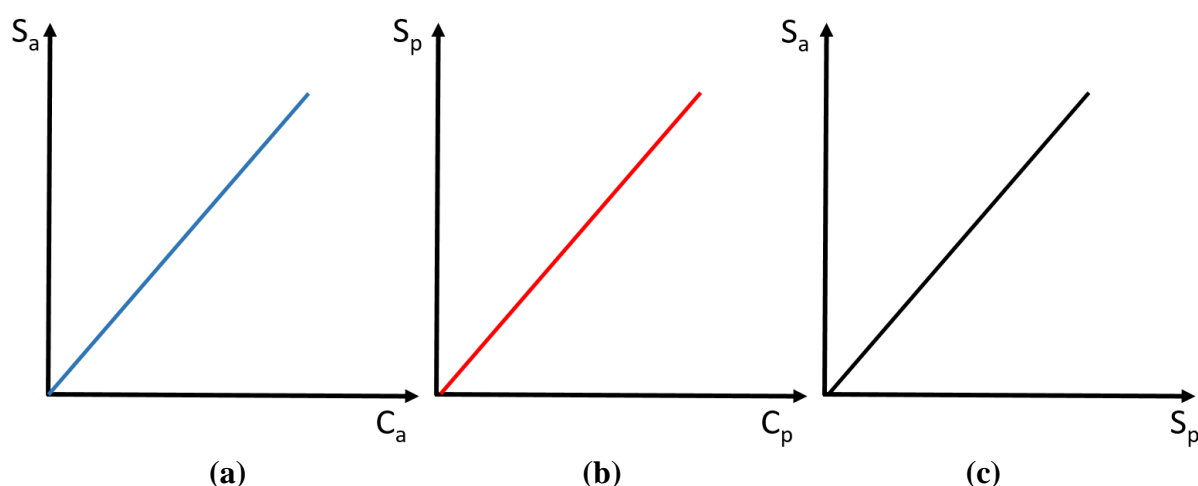


Figura 5. Gráficos que exemplificam a SS-MPC indicados em (a) sinal da amostra em função da concentração, (b) sinal do padrão em função da sua concentração e (c) curva de SS-MPC plotada pelo sinal da amostra em função do sinal do padrão. Fonte: Própria autora.

A dedução da fórmula que fornece a concentração do analito leva em consideração que, na ausência dos efeitos de matriz, ou em efeitos poucos significativos, a constante K para o padrão (K_p) pode ser igualada à constante K para a amostra (K_a). Uma vez que o sinal (S), como

descrito anteriormente, é equivalente ao produto da concentração pela constante K, temos que:

$$S_a = K_a C_a \quad e \quad S_p = K_p C_p \quad (\text{Eq. 02})$$

$$K_a = K_p \quad \therefore \quad \frac{S_a}{C_a} = \frac{S_p}{C_p} \quad (\text{Eq. 03})$$

No gráfico indicado na Figura 5c, em que é plotado S_a em função de S_p , o coeficiente angular da reta (a) corresponde à razão entre a concentração do padrão e da amostra.

$$\frac{S_a}{S_p} = \frac{C_a}{C_p} \quad (\text{Eq. 04})$$

$$\frac{S_a}{S_p} = a \quad (\text{Eq. 05})$$

$$a = \frac{C_a}{C_p} \quad (\text{Eq. 06})$$

$$C_a = C_p \cdot a \quad (\text{Eq. 07})$$

Dessa forma, a SS-MPC permite que a concentração da amostra seja obtida através do produto da concentração do padrão utilizado e do coeficiente angular da curva obtida.

Na literatura, a proposta SS-MPC ainda não foi suficientemente explorada, mostrando-se então como um método inovador.

Compreendida como um dos parâmetros operacionais que podem ser variados para se obter multi-sinais, a potência do laser foi a escolhida para este trabalho. Então, denomina-se a SS-MPC baseada na variação da potência do laser (MLP, do inglês *multi laser power*) como Calibração Multi potência do laser com único padrão (SS-MLPC, do inglês *Single Standard Multi Laser Power Calibration*).

Por sua vez, a calibração SS-TPC também visa simplificar a análise quantitativa, uma vez que também utiliza apenas uma solução padrão. O método requer que o padrão e a amostra sejam submetidos a análise em duas condições experimentais diferentes (potência, tempo de integração, voltagem, entre outros). Então, os sinais (S) obtidos são plotados em função da condição aplicada (P), definindo um trapézio retangular, como mostra a Figura 6. A Figura abaixo utiliza a potência de um laser como parâmetro instrumental que foi variado na análise.

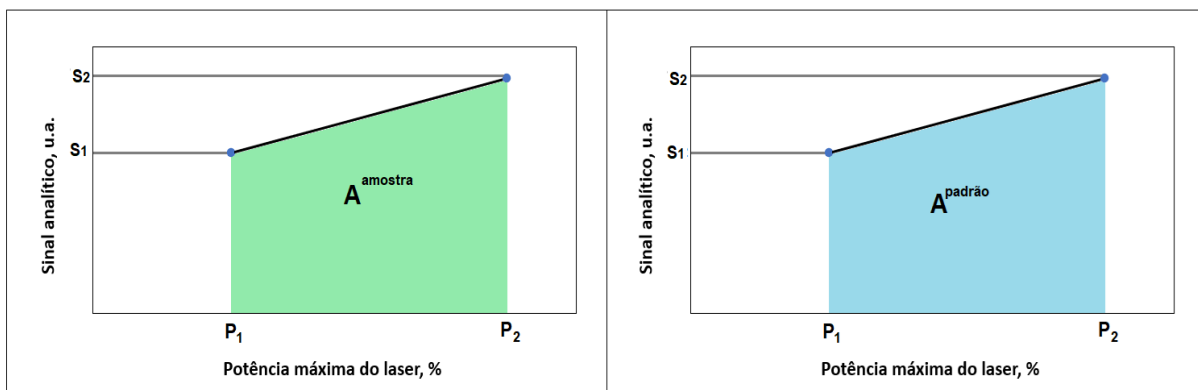


Figura 6. Representação gráfica da área do trapézio obtida para o cálculo de calibração com dois pontos com único padrão (área do trapézio). Fonte: Adaptado de Vieira e colaboradores (2020).

A área desse trapézio é dada pela Equação 08 abaixo, que é igual à soma dos sinais dos dois pontos, multiplicada pela subtração das duas potências medidas, dividido por dois.

$$A = \frac{(S_1 + S_2) \cdot (P_2 - P_1)}{2} \quad (\text{Eq. 08})$$

Então, se a intensidade do sinal é proporcional à concentração do analito na amostra, que também é proporcional a área do trapézio, então pode ser estabelecida a igualdade entre a razão das concentrações do padrão e amostra, e a razão dos sinais do padrão e da amostra.

$$\frac{C_a}{C_p} = \frac{(S_1 + S_2)_a}{(S_1 + S_2)_p} \quad (\text{Eq. 09})$$

Assim, a concentração do analito na amostra pode ser calculada como igual o produto da concentração do padrão pela razão entre as somas dos sinais da amostra e a soma dos sinais do padrão (Eq. 10).

$$C_a = C_p \cdot \frac{(S_1 + S_2)_a}{(S_1 + S_2)_p} \quad (\text{Eq. 10})$$

Vieira e colaboradores (2021) aplicaram este método de calibração, denominando-o de “Calibração com um ponto e Multi-voltagem” (OP-MVC, do inglês: *One-Point and Multi-Voltage Calibration*). Nesse trabalho, a calibração foi aplicada em Espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS, do inglês: *Laser Induced Breakdown Spectroscopy*), para a análise de P e Al em fertilizantes comerciais. O parâmetro instrumental avaliado foi a voltagem geradora de centelha elétrica acoplada ao espectrômetro, e os resultados deste estudo apresentaram nível de confiança de 95% e baixos limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), indicando então que a técnica é promissora e robusta.

Nesse contexto, parte do presente trabalho visa avaliar a possibilidade de aplicar a SS-MLPC e SS-TPC na análise quantitativa de fertilizantes NPK, utilizando a Espectroscopia Raman, tendo como parâmetros de variação a potência máxima do laser.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O objetivo central deste trabalho foi avaliar o potencial da combinação das técnicas Espectroscopia Raman e HR-CS FAAS no desenvolvimento de um novo método analítico para a identificação das espécies de nitrogênio (ureia, amônio e nitrato) e fósforo (fosfito, fosfato) e a quantificação de N, P e K em fertilizantes.

3.2. Objetivos Específicos

Para que o objetivo principal fosse alcançado foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- (i) Avaliar a possibilidade de quantificação de N e P em fertilizantes por Espectrometria de Absorção atômica em chama utilizando as linhas moleculares 247,620 nm (PO) e 215,247 nm (NO).
- (ii) Avaliar a combinação da química clássica, Espectroscopia Raman e Espectrometria de absorção atômica em chama para identificação e determinação total de N (ureia, nitrato e amônio) em fertilizantes.
- (iii) Avaliar novas propostas de calibração com único padrão (SS-MLPC: *Single Standard Multi-Laser Power Calibration* e SS-TPC: *Single Standard Two Point Calibration*) para determinação de N e P em fertilizantes por Espectroscopia Raman.
- (iv) Desenvolver um novo método de análise em fluxo pelo acoplamento Raman – HR-CS FAAS para identificação e quantificação de N (ureia, amônio, nitrato), P (fosfato e fosfito) e K em fertilizantes.

4. METODOLOGIA

4.1. Instrumentação

Os espectros Raman foram obtidos empregando um espectrômetro Raman modelo iRaman BWS415-785H (B&W Tek) com fonte de excitação de 785 nm (potência 350 mW) e resolução espectral $3,5 \text{ cm}^{-1}$. A excitação das soluções e amostras de fertilizantes, bem como a aquisição dos espectros de espalhamento Raman foi efetuada por meio de uma fibra óptica (*Raman probe*) modelo BAC 100 (B&W Tek) acoplada a um suporte para cubeta modelo BCR100A (B&W Tek). Os fundos espectrais foram corrigidos utilizando a ferramenta *Background Removal* disponível no software de controle do espectrômetro denominado BWSpec (B&W Tek). As principais condições operacionais do espectrômetro Raman como tempo total de integração e potência do laser foram otimizadas em 50% da potência máxima do laser e 30 s de aquisição do espectro.

As medidas de pH das soluções foram feitas com auxílio de um pHmetro KASVI K39-1014B, com eletrodo combinado de vidro com referência interna de Ag/AgCl. Foi utilizada solução de HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para ajuste de pH das soluções.

O estudo por espectrometria de absorção atômica e molecular empregou um espectrômetro AnalytikJena contraAA 300 (Jena, Alemanha) equipado com lâmpada de arco curto de xenônio operando no modo “hot spot” modelo XBO301 (GLE, Berlin, Alemanha) como fonte de radiação, queimador com caminho óptico de 100 mm, monocromador de alta resolução DEMON com rede Echelle e detector de carga acoplada. Para as análises de nitrogênio (NO), fósforo (PO) e potássio (K) foi empregada chama de ar-acetileno. Acetileno com grau de pureza 99,7% (Air Liquid, Sertãozinho, Brasil) foi utilizado como gás combustível. As vazões otimizadas de acetileno foram 45, 100 e 80 L h^{-1} para as análises de NO, PO e K, respectivamente. Todas as medidas foram feitas em triplicatas, com taxa de aspiração fixada em $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ e a altura de observação foi mantida em 9 mm para NO e PO e 8 mm para K. Para as determinações, foram utilizados os comprimentos de onda de 215,247 nm para NO, 247,620 nm para PO e 344,738 nm para K, e todas as absorbâncias integradas no comprimento de onda equivalentes à 3 *pixels*, sendo o pixel central da linha e os laterais ($CP \pm 1$).

A Tabela 1 resume as condições operacionais otimizadas para Raman e HR-CS FAAS.

Tabela 1. Parâmetros operacionais otimizados dos espectrômetros Raman e de Absorção Atômica e Molecular de fonte contínua com alta resolução.

Espectrômetro de Absorção Atômica e Molecular de fonte contínua com alta resolução			
	HR-CS FAAS		
	K	NO	PO
Vazão de acetileno (L h ⁻¹)	80	45	100
Taxa de aspiração (mL min ⁻¹)	5	5	5
Altura do queimador (mm)	8	9	9
Comprimento de onda (nm)	344,738	215,247	247,620
Número de pixels (pixels)	3	3	3
Caminho óptico (mm)	100	100	100
Espectrômetro Raman			
Porcentagem de potência do laser (%)	50		
Tempo de aquisição (s)	30		
Fonte de excitação (nm)	785		

4.2. Reagentes e soluções

Todas as soluções aquosas foram preparadas com água deionizada de alta pureza obtida a partir de um sistema de osmose reversa Millipore Rios 5TM combinado com deionizador Millipore Milli-QTM academic[®] (18,2 MΩ cm, Millipore).

As soluções analíticas foram preparadas pela diluição apropriada de soluções estoques padronizadas de: fosfato de sódio monobásico hidratado (Merck) 90000 mg L⁻¹ em P; fosfito de sódio dibásico pentahidratado (Sigma-Aldrich) 90000 mg L⁻¹ em P; ureia (Sigma-Aldrich) 80000 mg L⁻¹ em N; nitrato de sódio (Merck) 40000 mg L⁻¹ em N; sulfato de potássio (Spectrum, Tedia Brazil) 90000 mg L⁻¹ em S e cloreto de potássio (Êxodo Científica) 5000 mg L⁻¹ em K.

Foi preparada a Liga de Devarda de modo a conter 5,0 g de Cu_(s), 0,5 g de Zn_(s) e 4,5 g de Al_(s), totalizando 10 g, mantendo as porcentagens dos metais Cu, Zn e Al em 50%, 0,5% e 45%, respectivamente.

Todas as soluções foram armazenadas em frascos de propileno de alta densidade (Nalgene®, Rochester, NY, EUA). Os frascos plásticos e vidrarias foram descontaminados após o uso por imersão em banho HNO₃ 10% (v v⁻¹) por 24 h e posterior lavagem com água deionizada em abundância.

4.3. Procedimento experimental

As amostras de fertilizantes foram adquiridas no mercado local de Araraquara – SP e preparadas de acordo com a recomendação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2017).

As amostras de fertilizantes líquidos foram analisadas após diluição apropriada de 10 à 40 vezes em água deionizada.

Todas as soluções (amostras e padrões) tiveram seus pH previamente ajustados a 1,0 com o auxílio de solução de ácido clorídrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ou hidróxido de sódio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, conforme necessário.

Tanto para as análises em Espectroscopia Raman, quanto Espectrometria de Absorção atômica e molecular, as amostras foram preparadas em triplicatas ($n = 3$).

Para a determinação da presença de amônio no meio, foi conduzido o teste qualitativo que envolver a adição da amostra diluída de fertilizante em um frasco adequado, seguida da adição de 10 gotas de NaOH 4 mol L^{-1} , e aquecer cuidadosamente o sistema com um papel tornassol vermelho umedecido com água destilada na borda do tubo.

Para as análises por calibração externa via Espectroscopia Raman, foram preparadas curvas de calibração nas regiões lineares de: 1000 a 15000 mg L^{-1} (N – ureia); 1000 a 5000 mg L^{-1} (N – nitrato); 1000 a 20000 mg L^{-1} (P – fosfato); 1000 a 20000 mg L^{-1} (P – fosfite); 500 a 2500 mg L^{-1} (K), a partir da diluição apropriada das soluções estoque e do ajuste de pH à 1,0.

Para as análises por calibração externa via Espectrometria de Absorção Atômica foram preparadas curvas de calibração nas regiões lineares de: 1000 a 10000 mg L^{-1} (N); 500 a 5000 mg L^{-1} (P); 500 a 6000 mg L^{-1} (K), a partir da diluição apropriada das soluções estoque e do ajuste de pH à 1,0.

Para as análises por calibração com único padrão (SS-MLPC e SS-TPC), foram preparadas soluções padrões de 5000 mg L^{-1} (N-nitrato), 5000 mg L^{-1} (N-ureia), 5000 mg L^{-1} (P-fosfato) e 5000 mg L^{-1} (P-fosfite), a partir da diluição apropriada das soluções estoque e do ajuste de pH à 1,0.

4.4 Análise dos resultados e validação analítica

Materiais de referência certificados, técnicas, métodos e/ou procedimentos alternativos foram empregados na validação dos métodos.

Para fósforo, foi realizado o método do vanadomolibdênio (método amarelo) utilizando as medidas de absorvância a 400 nm em espectrofotômetro UV-Vis para a obtenção de uma curva de calibração externa (MAPA, 2017).

Para N, foi realizada a destilação Kjeldhal, com amostras previamente preparadas. Para as amostras que continham N na forma de nitrato, foi necessário converter a espécie NO_3^- em NH_4^+ . Para isso, uma massa da amostra de fertilizante correspondente à 1.0×10^{-3} mol de N foi pesada, em seguida foi adicionado 0,2 g de Liga de Devarda e 10 mL de H_2SO_4 2% (v v⁻¹). A mistura foi deixada em repouso por 10 minutos e em seguida foi realizada a destilação Kjeldhal convencional. Para as amostras que continham N na forma de ureia, a conversão de $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ em NH_4^+ foi realizada por digestão da amostra. Previamente foi pesada uma massa da amostra correspondente à 2.0×10^{-3} mol de N, acrescido de 2 mL de H_2SO_4 concentrado e realizada a digestão em CHDS com frasco aberto, com rampa de 30 minutos, patamar de 30 minutos à 260°C. Em seguida, foi realizada a destilação Kjeldhal convencional.

Para potássio, as amostras foram submetidas à espectrometria de emissão atômica em chama conforme descrito no método de análise oficial do MAPA.

O pré-processamento dos dados, como ajuste de linha base e integração da região espectral de interesse, foram realizados com o auxílio da planilha “*Chromatograms and spectra handling*”, proposta por Vieira e colaboradores (2019).

Os principais parâmetros de desempenho analítico foram avaliados com ênfase na seletividade, coeficiente de correlação, linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção e de quantificação (CURRIE, 1999). Testes estatísticos bem estabelecidos foram aplicados no tratamento e avaliação dos resultados analíticos.

4.5. Tratamento de resíduos

Os procedimentos relacionados aos tratamentos dos resíduos gerados foram conduzidos em capela de exaustão e empregando-se equipamentos de proteção individual.

Soluções remanescentes, provenientes dos ácidos inorgânicos utilizados foram diluídas e neutralizadas com NaOH, garantindo que o pH da solução se encontrasse entre 6 – 8. Após a neutralização a solução final pôde ser descartada lentamente na rede coletora de esgoto sob água corrente em abundância.

Soluções remanescentes de metais tóxicos (vanádio e molibdênio) foram armazenadas em bombonas de polietileno após serem precipitadas na forma de hidróxido, devidamente identificadas e destinadas para o descarte adequado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Otimização dos parâmetros operacionais do espectrômetro Raman.

Em Espectroscopia Raman, os principais parâmetros operacionais a serem otimizados a fim de se obter sinais analíticos adequados são: a porcentagem da potência máxima do laser e o tempo de aquisição das medidas.

Para o estudo, uma solução $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido fosfórico foi submetida a diferentes potências do laser (10 a 100%), variando-a em intervalos de 10%, em um tempo de coleta e integração do sinal inicialmente fixado em 30 s. Análise da Figura 7 revela um comportamento linear no aumento da intensidade do sinal com a elevação da potência. O mesmo efeito foi observado para o estudo realizado fixando-se a potência do laser em 50% e variando o tempo de integração do sinal (5 a 60 s) em intervalos de 5 s.

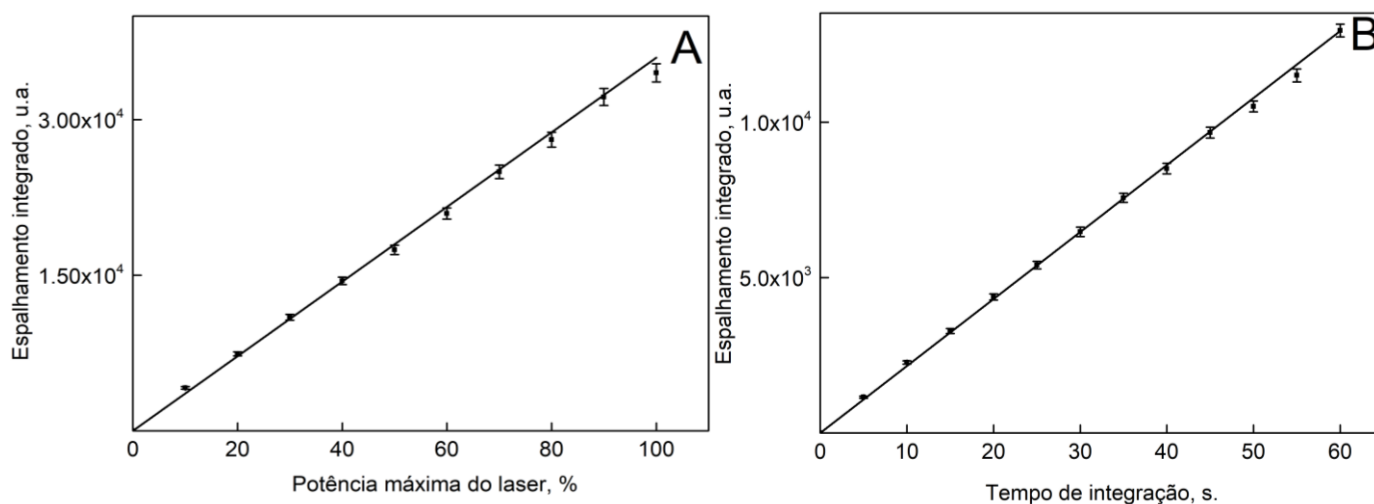


Figura 7. Influência da variação da potência do laser (A) e do tempo de integração (B) no espalhamento Raman de uma solução $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ em H_3PO_4 . Fonte: Própria autora.

Considerando as sensibilidades requeridas (diluições esperadas para as amostras de fertilizantes), decidiu-se fixar a potência em 50% da potência máxima (350 mW), e o tempo de integração em 30 s, condições experimentais que forneceram intensidades de sinais e precisões satisfatórias para realizar os estudos subsequentes.

5.2. Comportamento das espécies de N ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, NH_4^+ e NO_3^-) e P (PO_4^{3-} e HPO_4^{2-}) em função do pH

As principais espécies a serem consideradas no estudo de amostras de fertilizantes são fosfato, fosfito, ureia, nitrato, amônio e possíveis interferentes como sulfato e carbonato.

Inicialmente, considerando as ionizações dos ácidos fosfórico e fosforoso, e suas respectivas constantes de ionização, é possível prever teoricamente como as diferentes espécies

desses ácidos estão distribuídas em uma solução em função do pH do meio. Um gráfico de grau de dissociação (α) em função do pH é uma forma simples de identificar qual espécie predominará em dado pH. No caso do ácido fosfórico que possui três hidrogênios ionizáveis ($K_{a1} = 1,1 \times 10^{-2}$; $K_{a2} = 7,5 \times 10^{-8}$; $K_{a3} = 4,8 \times 10^{-13}$), a fração das espécies desse ácido em função do pH é calculada pelas equações (Eq. 11 à 14):

$$\alpha_0 (\text{H}_3\text{PO}_4) = [\text{H}^+]^3 / \{[\text{H}^+]^3 + (K_{a1} [\text{H}^+]^2) + (K_{a1} K_{a2} [\text{H}^+]) + (K_{a1} K_{a2} K_{a3})\} \quad (\text{Eq. 11})$$

$$\alpha_1 (\text{H}_2\text{PO}_4^-) = K_{a1} [\text{H}^+]^2 / \{[\text{H}^+]^3 + (K_{a1} [\text{H}^+]^2) + (K_{a1} K_{a2} [\text{H}^+]) + (K_{a1} K_{a2} K_{a3})\} \quad (\text{Eq. 12})$$

$$\alpha_2 (\text{HPO}_4^{2-}) = K_{a1} K_{a2} [\text{H}^+] / \{[\text{H}^+]^3 + (K_{a1} [\text{H}^+]^2) + (K_{a1} K_{a2} [\text{H}^+]) + (K_{a1} K_{a2} K_{a3})\} \quad (\text{Eq. 13})$$

$$\alpha_3 (\text{PO}_4^{3-}) = K_{a1} K_{a2} K_{a3} / \{[\text{H}^+]^3 + (K_{a1} [\text{H}^+]^2) + (K_{a1} K_{a2} [\text{H}^+]) + (K_{a1} K_{a2} K_{a3})\} \quad (\text{Eq. 14})$$

A Figura 8 apresenta uma simulação de como as frações α_0 , α_1 , α_2 e α_3 variariam com a mudança do pH de 1 a 14, em intervalos de 1 unidade.

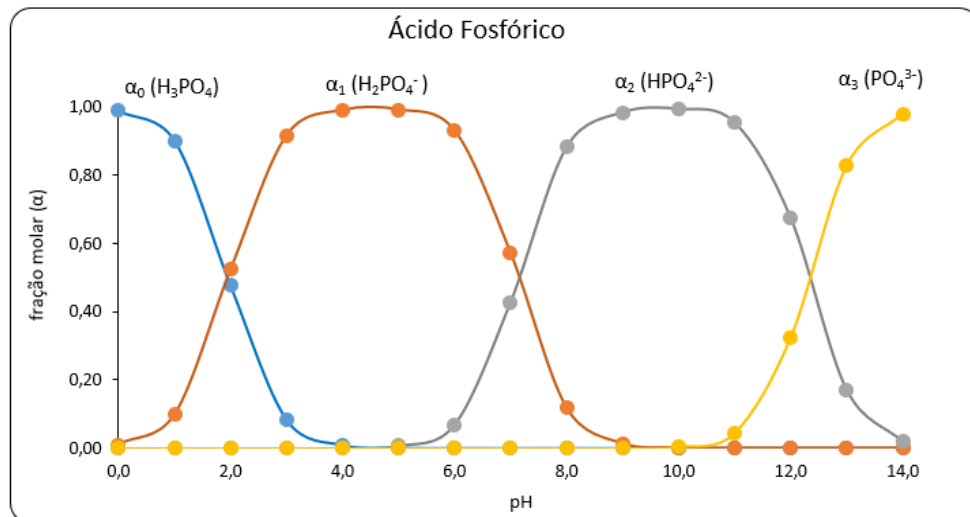


Figura 8. Distribuição das espécies de H₃PO₄ em função do pH. Fonte: Própria autora.

A mesma simulação foi realizada para o ácido fosforoso que possui 2 hidrogênios ionizáveis ($K_{a1} = 5,0 \times 10^{-2}$; $K_{a2} = 2,6 \times 10^{-7}$), cujas frações das espécies desse ácido (Figura 10) foram calculadas utilizando-se as seguintes equações (Eq. 15 à Eq. 17):

$$\alpha_0 (\text{H}_3\text{PO}_3) = [\text{H}^+]^2 / \{[\text{H}^+]^2 + (K_{a1} [\text{H}^+]) + (K_{a1} K_{a2})\} \quad (\text{Eq. 14})$$

$$\alpha_1 (\text{H}_2\text{PO}_3^-) = K_{a1} [\text{H}^+] / \{[\text{H}^+]^2 + (K_{a1} [\text{H}^+]) + (K_{a1} K_{a2})\} \quad (\text{Eq. 16})$$

$$\alpha_2 (\text{HPO}_3^{2-}) = K_{a1} K_{a2} / \{[\text{H}^+]^2 + (K_{a1} [\text{H}^+]) + (K_{a1} K_{a2})\} \quad (\text{Eq. 17})$$

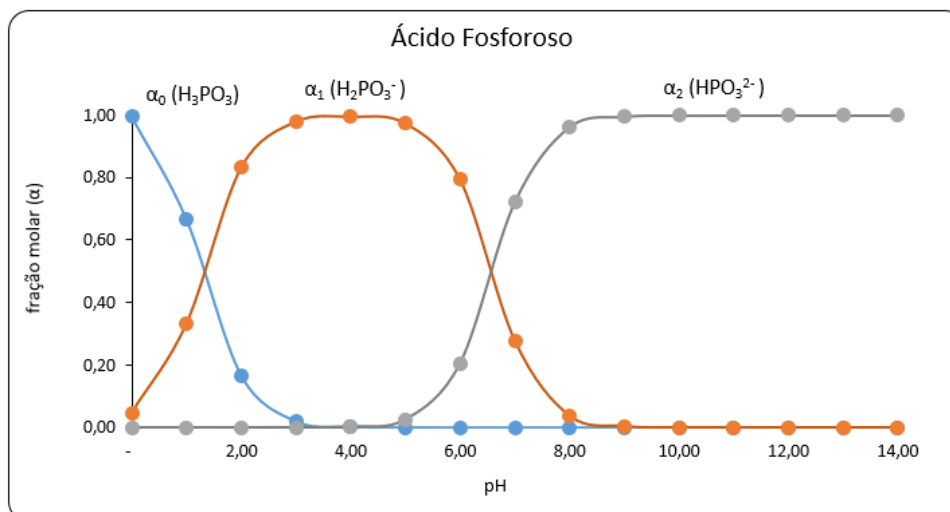


Figura 9. Distribuição das espécies de H_3PO_3 em função do pH. Fonte: Própria autora.

A análise das Figuras 8 e 9 revela que o pH influencia significativamente na natureza da espécie e conseqüentemente nos espectros Raman. Isso é fundamental no caso de análises de amostras comerciais, pois a não fixação do pH pode acarretar problemas de precisão e exatidão das medidas.

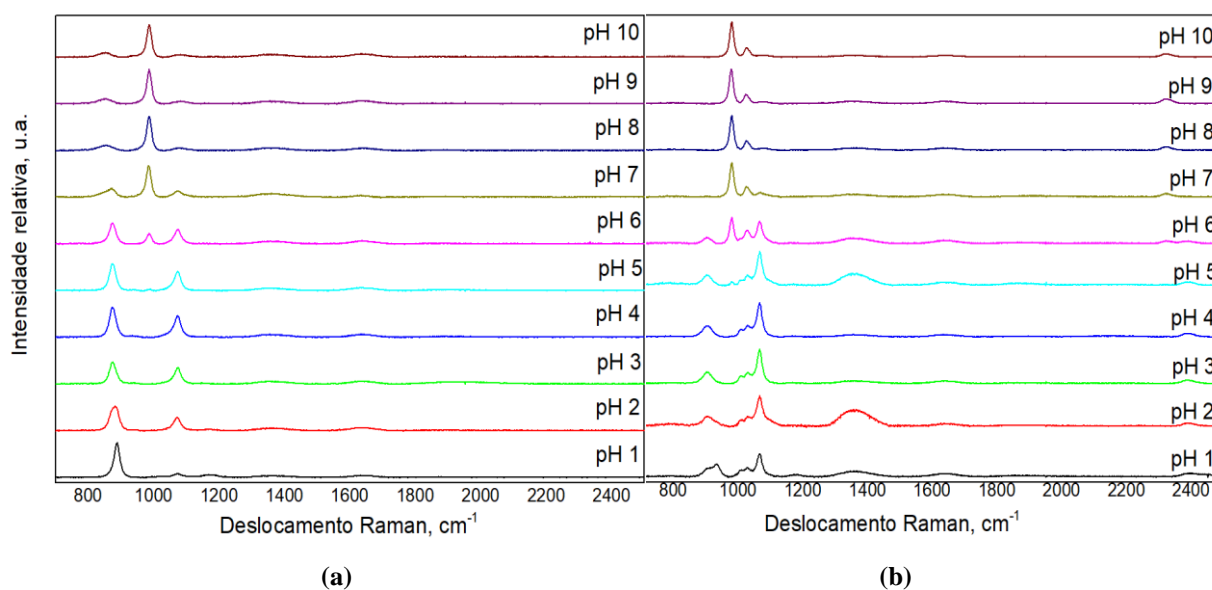


Figura 10. Comportamento dos espectros Raman das espécies de (a) ácido fosfórico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e (b) ácido fosforoso $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Condições instrumentais: 50% da potência do laser; 30 s integração. Fonte: Própria autora.

Complementarmente à análise das Figuras 8 e 9, a Figura 10 mostra que o comportamento dos espectros Raman referente a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ em fosfato (a) e fosfito (b) muda em função do pH (de 1 a 10), devido a distribuição das diferentes espécies provenientes da desprotonação desses ácidos. A Tabela 2 descreve as espécies químicas e as atribuições referentes às bandas de P-PO_3 e P-PO_4 em diferentes condições de pH.

Tabela 2. Atribuição das bandas de fosfato e fosfito por Espectroscopia Raman.

Deslocamento Raman (cm^{-1})	Atribuição
Fosfato	
847; 877; 890	$\nu_s \text{P(OH)}$; $\nu_s \text{P(OH)}_2$; $\nu_s \text{P(OH)}_3$
981; 746	PO e vibração simétrica $\nu_1 \text{PO}_4^{3-}$ de HPO_4^{2-}
1077	Vibração antissimétrica $\nu_2 \text{PO}_2$ de HPO_4^-
1170	Vibração $\nu_s \text{P=O}$
Fosfito	
905; 934	$\nu_s \text{P(OH)}$; $\nu_s \text{P(OH)}_2$
981	Vibração $A_1 \nu(\text{PO}_3)$
1024; 1029	Vibração P-H; deformação E $\delta(\text{PH})$
1070	Vibração assimétrica $\nu(\text{PO}_3)$
2321; 2390; 2395	Vibração P-H; $A_1 \nu(\text{PH})$

Em contrapartida, as espécies de nitrogênio (uréia e nitrato) e de enxofre (sulfato) não apresentam mudanças nos comportamentos dos espectros Raman com a variação do pH, como mostra a Figura 11. Em relação ao íon amônio, a espécie não apresenta espectro Raman nas configurações instrumentais do equipamento utilizado. Segundo a literatura, o NH_4^+ apresenta banda de espalhamento Raman na região de 3000 a 3300 cm^{-1} , e o equipamento utilizado para a coleta de dados se limita a região de 170 a 2700 cm^{-1} .

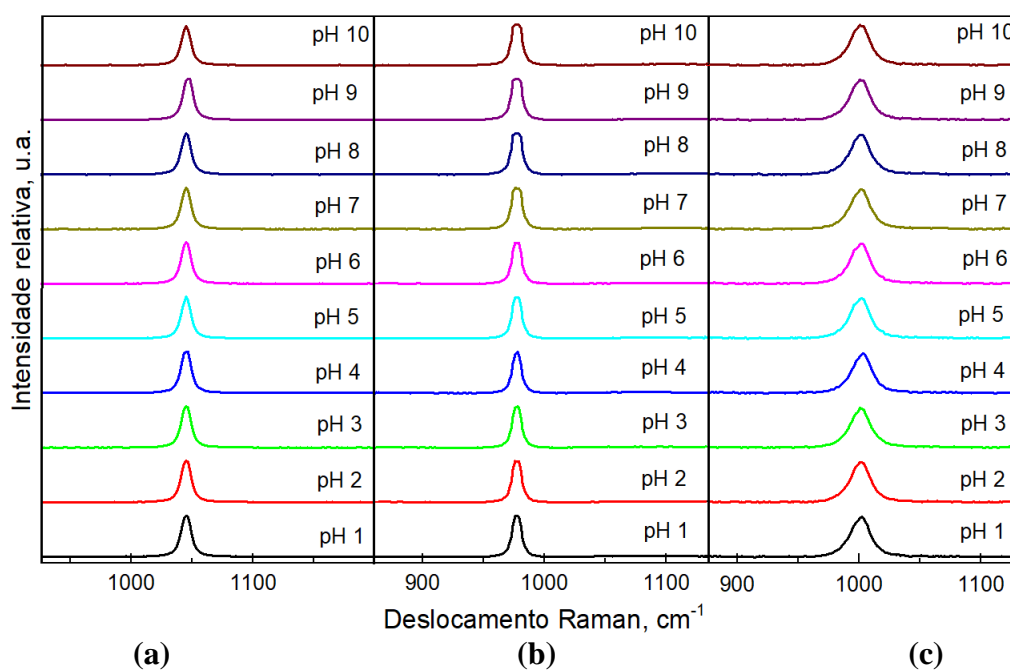


Figura 11. Comportamento dos espectros Raman das espécies de (a) nitrato de sódio 0,25 mol L^{-1} , (b) sulfato de sódio 0,25 mol L^{-1} e (c) uréia 0,25 mol L^{-1} . Condições instrumentais: 50% da potência do laser; 30 s integração. Fonte: Própria autora.

Visto isto, foi avaliada a possibilidade de realizar a análise simultânea qualitativa e quantitativa das espécies de P (PO_4^{3-} e HPO_4^{2-}) e N (NO_3^- e $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) admitindo a condição de $\text{pH} = 1,0$. Essa condição foi escolhida em vista da facilidade do ajuste do pH das soluções, uma vez que as amostras comerciais possuem, em sua maioria, pH inferiores a 7. Além disso, a condição ácida favorece uma futura análise em fluxo das amostras combinando a Espectroscopia Raman e a Espectrometria de Absorção Atômica com atomização em chama. Outra vantagem desta condição é a prevenção da precipitação de metais que possam estar presentes na amostra, uma vez que alguns fertilizantes também trazem micronutrientes em suas formulações. A Figura 12 ilustra os espectros obtidos para as espécies estudadas que comumente estão presentes em formulações de fertilizantes NPK. Como pode ser observado na figura, há a possibilidade de identificar (análise qualitativa) vários analitos por Espectroscopia Raman nas condições descritas.

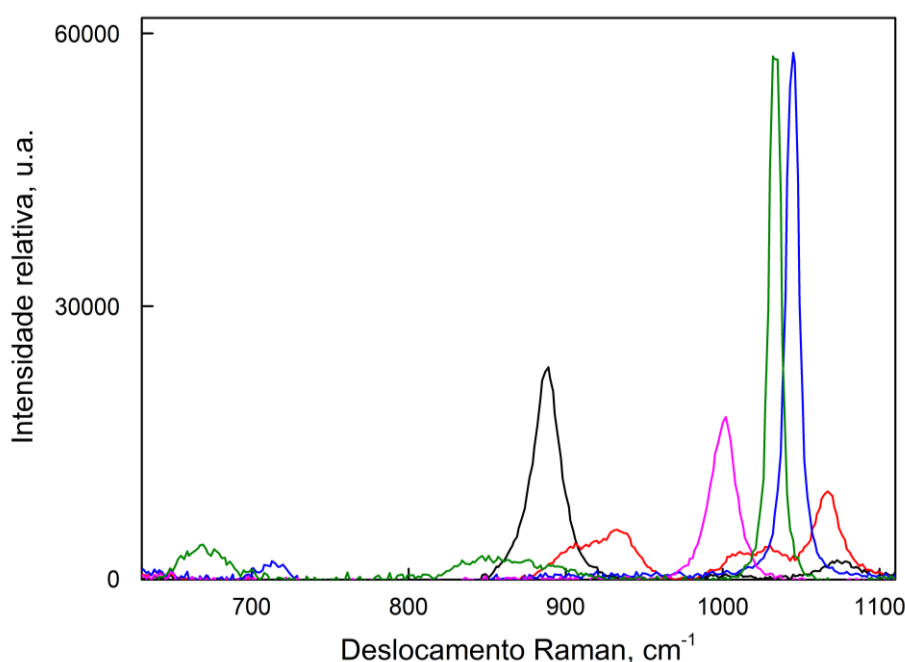


Figura 12. Espectros Raman das espécies de fosfato (—), fosfito (—), nitrato (—), ureia (—) e sulfato (—) empregando: $\text{pH} = 1,0$; 50% da potência do laser; 30 s de integração do sinal. Fonte: Própria autora.

A identificação do íon sulfato é relevante na análise de fertilizantes do tipo NPK, pois o sulfato atua como macronutriente secundário, participando ativamente na formação de moléculas orgânicas como aminoácidos, proteínas e enzimas. Além disso, o sulfato apresenta uma banda sensível no deslocamento $1010 - 1050 \text{ cm}^{-1}$, e outra menos intensa na região $800 - 900 \text{ cm}^{-1}$, que coincide com o deslocamento das espécies de interesse, como nitrato (1045 cm^{-1}) e fosfato (981 cm^{-1}). Assim, a identificação do íon sulfato é relevante visto que podem ser

adotadas alternativas para eliminação da interferência do sinal, caso necessário, em que a eliminação do sulfato do meio pode ser feita facilmente através da precipitação quantitativa.

5.3. Análise Qualitativa

A análise qualitativa de fertilizantes NPK pode ser facilmente realizada pela Espectroscopia Raman de forma robusta e simples, como ilustrado na Figura 12, em que há a possibilidade da especiação de fosfito, fosfato, nitrato, ureia e a identificação de sulfato, simultaneamente.

Em pH 1,0, o espectro Raman do ácido fosfórico (PO_4^{3-}), apresenta bandas de estiramento simétrico referente a ligação $\nu_s\text{P(OH)}$ em 889 cm^{-1} , estiramento referente à ligação $\text{P(O}_2)$ em 1077 cm^{-1} e estiramento simétrico referente à vibração P=O em 1170 cm^{-1} , sendo a primeira a banda mais intensa (OLIVEIRA et al., 2021). O ácido fosforoso (HPO_3^{2-}), nas mesmas condições de pH, apresenta banda de estiramento simétrico referente à $\nu_s\text{P(OH)}$ e $\nu_s\text{P(OH)}_2$ em 935 cm^{-1} e estiramento assimétrico $\nu(\text{PO}_3)$ 1067 cm^{-1} , e uma banda de menor sensibilidade em 2390 cm^{-1} para o estiramento assimétrico $\nu(\text{PH})$ (OLIVEIRA et al., 2021).

Para o nitrato, as bandas que aparecem no deslocamento de 1045 cm^{-1} e 720 cm^{-1} são associadas ao estiramento do N-O do íon nitrato. Para a ureia, a banda localizada no deslocamento 1000 cm^{-1} corresponde a um modo de vibração simétrico do grupo CN (THALER, 2020).

Por sua vez, o sulfato de sódio apresentou bandas nas regiões de 980 cm^{-1} e em 1140 cm^{-1} para o estiramento SO_4^{2-} (RUDOLPH; BROOKER; TREMAINE, 1999).

A Tabela 3 abaixo resume a relação entre a atribuição das bandas e seus respectivos deslocamentos Raman.

Tabela 3. Atribuição das bandas de espalhamento Raman para as espécies de N, P e S.

Deslocamento (cm^{-1})	Atribuição
889; 935	$\nu_s\text{P(OH)}$
1170	$\nu_s\text{P=O}$
935	$\nu_s\text{P(OH)}_2$
1067	$\nu_s(\text{PO}_3)$
2390	$\nu(\text{PH})$
720; 1045	$\nu_s\text{N-O}$
1000	CN
980; 1140	SO_4^{2-}

Com a atribuição das bandas anteriormente descritas, dez amostras comerciais de fertilizantes NPK foram diluídas de 10 a 40 vezes, o pH foi ajustado a 1,0 e então analisadas (Figura 13).

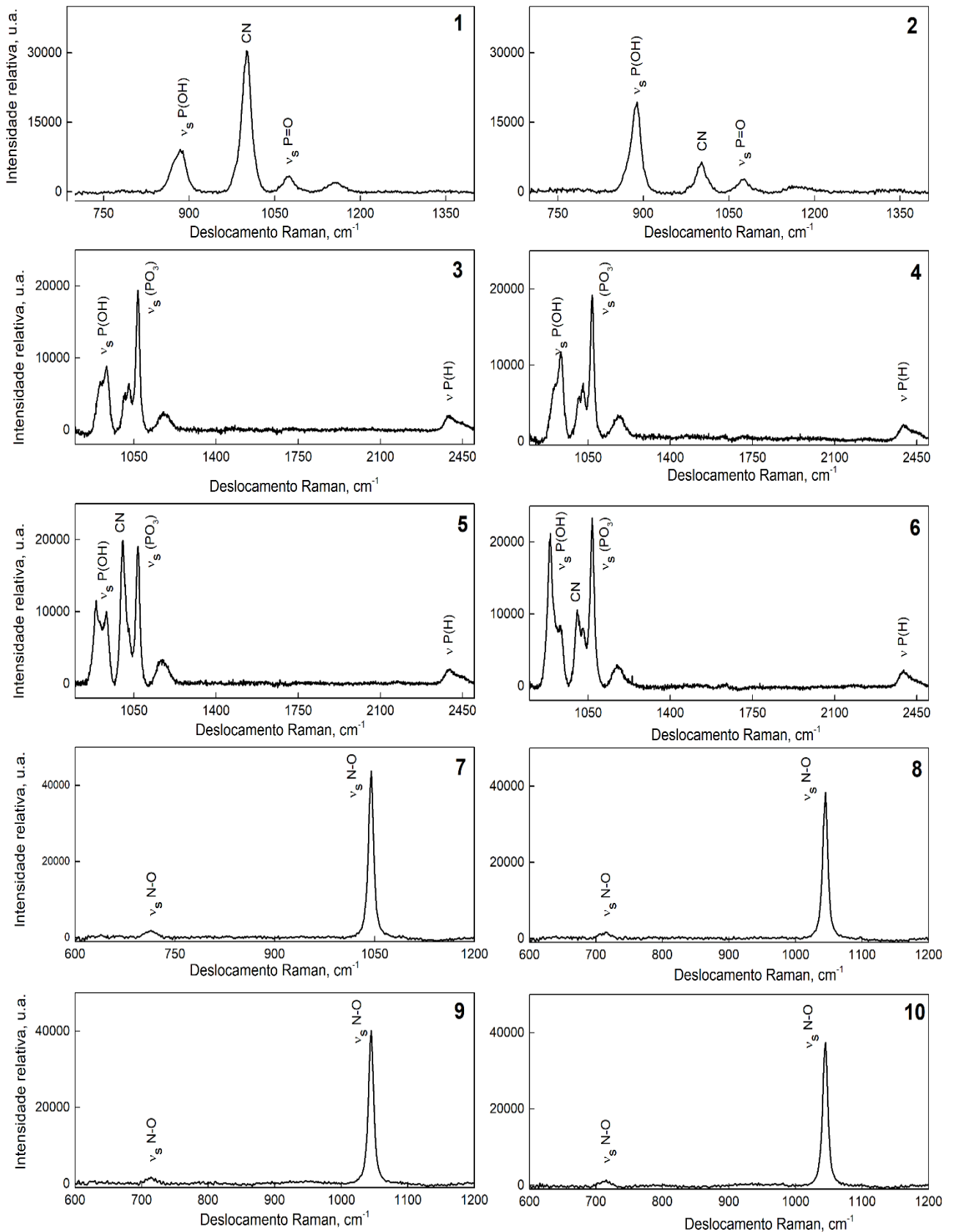


Figura 13. Espectros de espalhamento Raman das amostras de fertilizantes analisadas, enumeradas de 1 à 10, e as respectivas identificações das fontes de N e P por meio da atribuição das bandas. Fonte: Própria autora.

Análise da Figura 13 revela as bandas referentes à ureia, nitrato, fosfato e fosfito. Além disso, os espectros de espalhamento Raman das amostras não apresentaram sinais associados à possíveis produtos, tão pouco interferência da matriz da amostra, o que mostra que a Espectroscopia Raman é uma técnica útil na análise qualitativa de fertilizantes NPK assim como na especificação de N e P.

A Tabela 4 resume as informações referentes às amostras analisadas no que se refere às fontes de N e P identificadas nos espectros Raman.

Tabela 4. Relação de amostras de fertilizantes NPK e suas composições químicas.

Amostra	Formulação	Fonte de N	Fonte de P
1	10.10.10	Uréia	Fosfato
2	04.14.08	Uréia	Fosfato
3	00.30.20	ausente	Fosfito
4	00.40.20	ausente	Fosfito
5	05.25.15	Uréia	Fosfato e Fosfito
6	02.22.14	Uréia	Fosfato e Fosfito
7	1028	Nitrato	ausente
8	29620	Nitrato	ausente
9	221B-BS	Nitrato	ausente
10	221B-BS-TF	Nitrato	ausente

5.4. Análise Quantitativa

5.4.1. Avaliação do efeito da força iônica

Levando em consideração a necessidade da adição de ácido forte (HCl) e base forte (NaOH) para ajuste de pH das amostras analisadas, foi avaliada a possibilidade de o efeito da força iônica do meio interferir no espalhamento Raman das espécies de interesse, uma vez que o produto iônico é consideravelmente aumentado com a adição de ácidos ou bases no meio.

Para isso, foi realizado um breve estudo com a análise de uma solução de ácido fosforoso (fosfito) à $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com adição de 0; 0,1; 1,0 e $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl. A Figura 14 mostra o comportamento do espalhamento Raman nas condições anteriormente citadas.

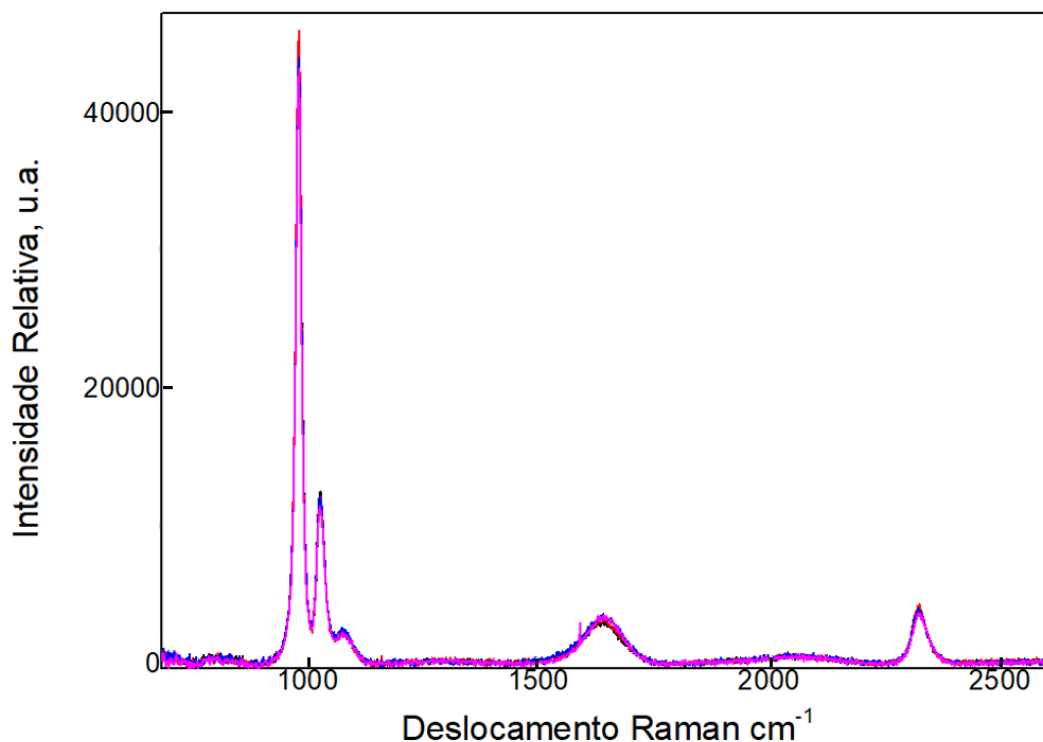


Figura 14. Espalhamento Raman de solução de H₃PO₃ 0,5 mol L⁻¹ pura (—), e na presença de 0,1 mol L⁻¹ de NaCl (—); 1,0 mol L⁻¹ de NaCl (—) e 2,0 mol L⁻¹ de NaCl (—). Fonte: Própria autora.

Foi observado que, para as condições de análise utilizadas e concentrações das amostras, a adição de até 2,0 mol L⁻¹ de íons não interfere significativamente no espalhamento das espécies, tanto em relação à intensidade do sinal quanto ao deslocamento Raman. Logo, o ajuste de pH das amostras não causa mudanças significativas no espalhamento das espécies.

De modo complementar, foi realizado um estudo da influência da força iônica na área integrada das regiões de interesse dos espectros de espalhamento Raman para fósforo e nitrogênio. Nesse estudo, soluções puras de P-PO₄³⁻ 1% (m m⁻¹), P-HPO₃²⁻ 1% (m m⁻¹), N-NO₃⁻ 0,25% (m m⁻¹) e N-ureia 0,25% (m m⁻¹) foram analisadas em espectrômetro Raman, e a área da banda mais sensível de cada solução foi integrada, sendo as regiões de 850 cm⁻¹, 2400 cm⁻¹, 1045 cm⁻¹ e 1000 cm⁻¹, respectivamente. A Figura 15 mostra a variação das áreas calculadas das soluções padrões e de amostras preparadas em mesmas condições de concentração e pH.

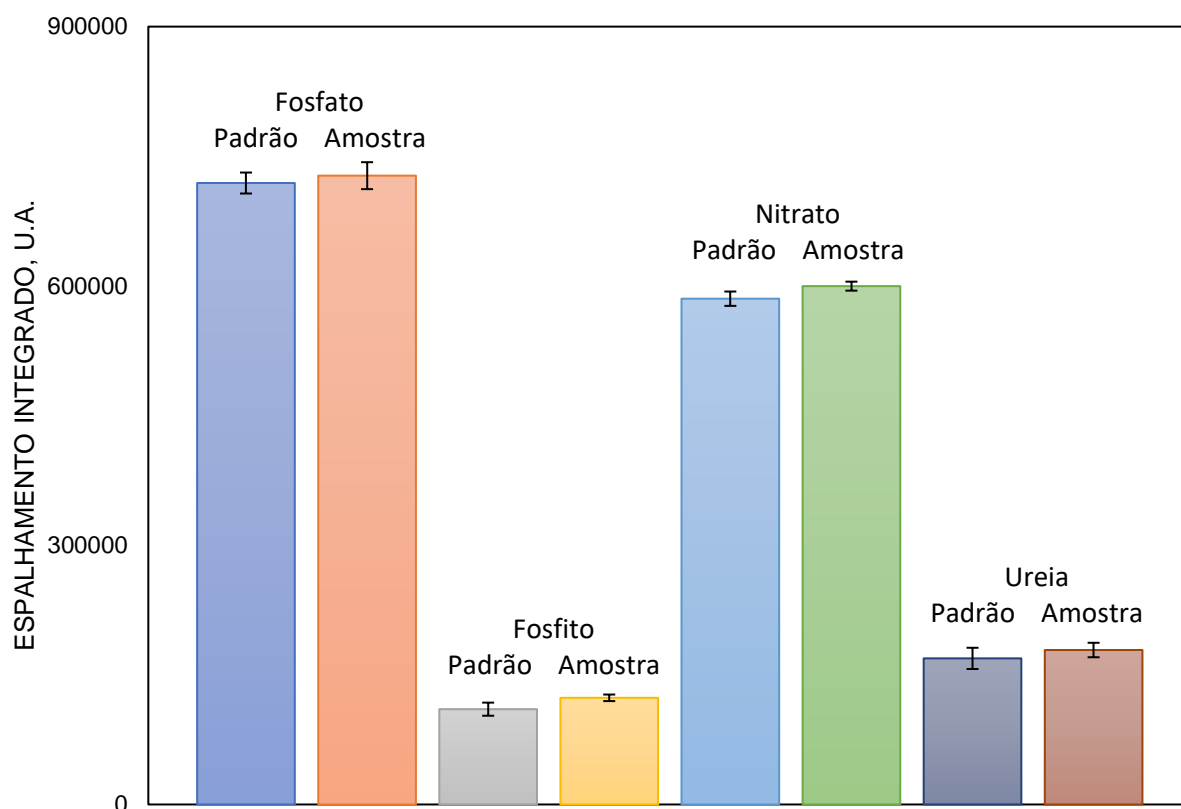


Figura 15. Gráfico de barras de comparação entre os espalhamentos integrados das soluções padronizadas de fosfato, fosfito, nitrato e ureia e dos espalhamentos integrados das respectivas amostras nas mesmas condições de concentração e pH. Fonte: Própria autora.

As Figuras 14 e 15 permitem afirmar que o ajuste do pH e a consequente alteração na força iônica do meio não causa prejuízos às futuras quantificações, uma vez que não afetam significativamente o comportamento do espectro de espalhamento Raman, assim como as matrizes das amostras não causam variações nas áreas integradas das bandas das espécies estudadas.

5.4.2. Eliminação da interferência de bandas sobrepostas

Os espectros das espécies de N (ureia e nitrato) e P (fosfato e fosfito) obtidos em pH = 1,0 (Figura 12) mostram que as bandas do fosfito ($875 - 967 \text{ cm}^{-1}$), fosfato ($848 - 932 \text{ cm}^{-1}$), ureia ($965 - 1037 \text{ cm}^{-1}$), sulfato ($1000-1054 \text{ cm}^{-1}$) e nitrato ($1008 - 1081 \text{ cm}^{-1}$) podem apresentar alguma sobreposição, a depender da composição da amostra.

A Figura 16 mostra o exemplo de sobreposição de fosfato ($848 - 932 \text{ cm}^{-1}$) e fosfito ($875 - 970 \text{ cm}^{-1}$) para soluções 1% (v v⁻¹) de P em pH=1,0.

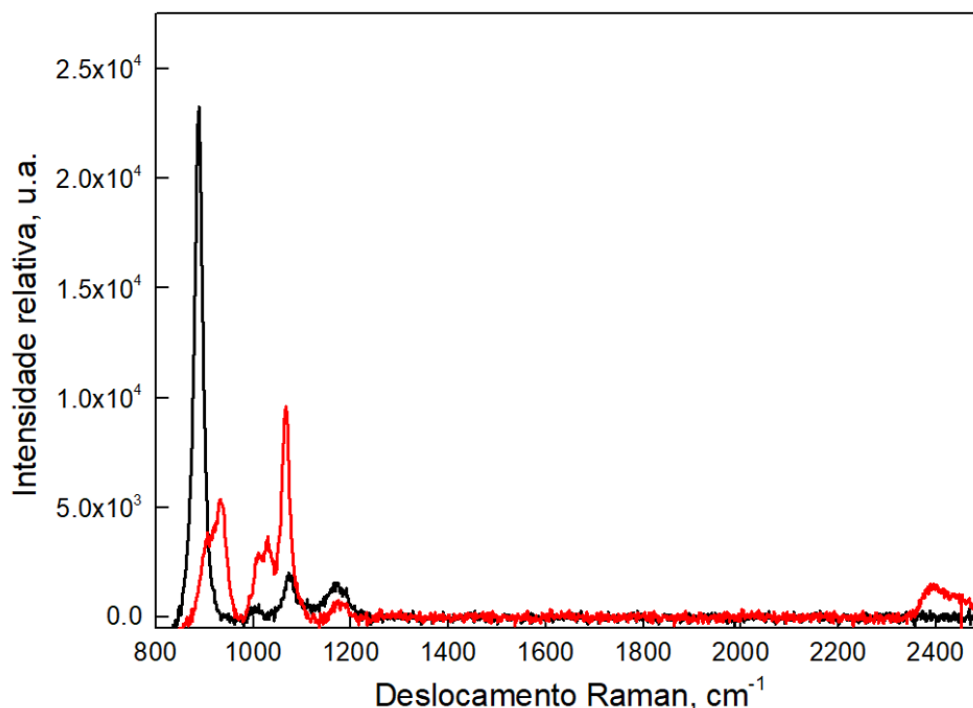


Figura 16. Espectro de espalhamento Raman de soluções padrões de fosfato (ácido fosfórico) 1% (v v⁻¹) (—) e fosfito (ácido fosforoso) 1% (v v⁻¹) (—) em pH = 1,0. Fonte: Própria autora.

A interferência das bandas pode ser facilmente resolvida através de um simples tratamento matemático que envolve: a determinação da razão entre as bandas das mesmas espécies em condições padrões, e estimar a área dessa banda em uma amostra que haja interferência.

A Figura 16 mostra que o fosfito apresenta uma banda na região 2450 cm⁻¹ que não sofre interferência de outra espécie que possa estar presente na composição dos fertilizantes NPK. Com essa região, é possível estimar a área da banda interferida em 900 cm⁻¹ ou em 1100 cm⁻¹. Para isso, a partir de uma solução pura de ácido fosforoso, é determinada a razão entre as intensidades integradas das regiões 875 – 967 cm⁻¹ e 2340 – 2480 cm⁻¹ ($A_1^{875-970}/A_2^{2340-2480} = 4,64$). Esta relação, que é fixa, permite estimar a contribuição do fosfito no espalhamento medido em 848 – 932 cm⁻¹ desde que a intensidade na região 2340 – 2480 cm⁻¹ seja medida e conhecida.

Dessa forma, a determinação simultânea de fosfato e fosfito em mistura é possível e foi feita da seguinte forma: após a aquisição do espectro da amostra, medem-se as intensidades integradas das bandas 2340 – 2480 cm⁻¹ (fosfito, A_1) e 848 – 970 cm⁻¹ (fosfito + fosfato, A_2). Subtrai-se desta última 4,64 vezes a intensidade em 848-932 cm⁻¹ (fosfito, A_1) obtendo-se então a concentração de fosfato referente à 848 – 932 cm⁻¹ (A_3). A equação abaixo resume:

$$A_3 = A_2 - (A_1 \cdot R) \quad (\text{Eq. 18})$$

As tabelas 5 e 6 apresentam os resultados obtidos para fosfato e fosfito em mistura que se seguem.

Tabela 5. Integração das regiões espectrais dos espectros das soluções de fosfato e fosfito ambas em 1,0% (v v⁻¹) de P puras a pH 1,0 e razão entre as regiões de fosfato.

Solução 1,0% (v/v)	875 – 967 cm⁻¹	Área 2340 – 2480 cm⁻¹	Proporção
Fosfito	888144,7741	191570,123	4,64
Fosfato	314636,5257		

Tabela 6. Integração das regiões espectrais do espectro da mistura de fosfato e fosfito ambos 1,0% (v v⁻¹) de P a pH 1,0 e estimativa da área referente a espécie de fosfito.

Região espectral	Área
2340 – 2480 cm ⁻¹ (A₁ , Fosfito)	897115,9334
848 - 932 cm ⁻¹ (A₂ , Fosfato + Fosfito)	193505,177
875 – 967 cm ⁻¹ (A₃ , Fosfato)	317814,6725

O método proposto por meio da equação matemática (Eq. 16) apresentou uma área estimada para fosfato (A₃) correspondente à 101% da área medida para a solução pura na mesma região, pH e concentração.

Então, o método foi aplicado para as amostras 5 (05.25.15) e 6 (02.22.14), em que houveram sobreposições referentes à fosfito e fosfato, e também à ureia e fosfito, respectivamente. Os resultados obtidos das áreas de fosfato (amostra 5) e ureia (amostra 6) permitiram a quantificação das espécies pelos métodos de calibração que serão apresentados a seguir, sem prejuízos nas quantificações e com desvios adequados.

5.4.3. Calibração com padrão único

Novas propostas de calibração vem surgindo como alternativas aos métodos tradicionais de quantificação. As calibrações que envolvem o uso de uma única solução padrão possuem as vantagens de serem mais simples, não demandarem o preparo de inúmeras soluções padrões e gerarem menos resíduos.

No entanto, a concentração do padrão influencia significativamente na robustez do método e na qualidade dos resultados. Para isso, foi realizado um estudo sobre a concentração ideal do padrão, utilizando a *Single Standard Multi-Laser Power Calibration* (SS-MLPC).

Nesse estudo, foram preparadas soluções padronizadas de P (fosfato) com concentrações 0,25%, 0,33%, 0,50%, 0,75% e 1,0% (m m⁻¹), e analisadas em triplicata na condição de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100% da potência máxima do laser. O mesmo foi feito para solução de N (ureia). Da mesma forma, uma amostra contendo 0,50% (m m⁻¹) de P (fosfato) e 0,50% (m m⁻¹) de N (ureia) foi analisada nas mesmas condições de variação de potência do laser. Com isso, curvas de calibração SS-MLPC sendo a concentração da amostra

em função da concentração do padrão foram plotadas, e as curvas demonstradas na Figura 17 foram obtidas.

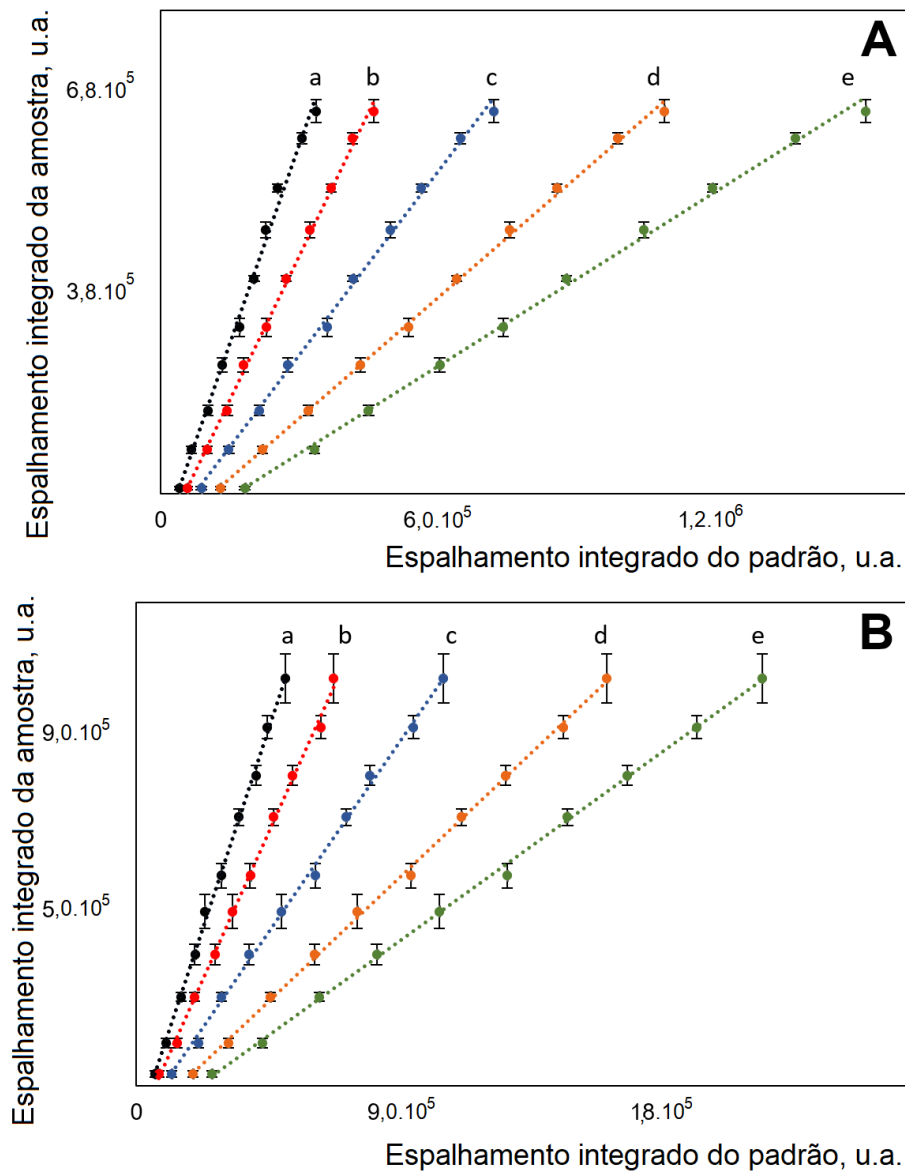


Figura 17. Curvas de calibração *Single Standard Multi-Laser power Calibration* para nitrogênio (A) e fósforo (B) adquirida com soluções padrões de concentração (a) 0,25; (b) 0,33; (c) 0,50; (d) 0,75 e (e) 1,0 % (m m^{-1}) de N e P, respectivamente, e amostras de 0,50% (m m^{-1}) de N e P respectivamente, em um intervalo da potência máxima do laser de 10 à 100%. Fonte: Própria autora.

Na Figura 17 é possível observar que as curvas obtidas para as diferentes concentrações da solução padrão apresentam um comportamento linear, indicando potencial para serem utilizadas nas calibrações SS-MLPC e SS-TPC. Para essa condição, a amostra submetida à análise obteve resultados satisfatórios, como mostra a Tabela 7. Tanto para N quanto para P, os valores obtidos variaram de 87% à 103% em relação ao rótulo.

Tabela 7. Recuperações de N e P obtidas por *Single Standard Multi-Laser Power Calibration*. Curva plotada com 10 pontos, correspondendo à faixa de potência do laser de 10-100%.

Concentração do padrão, % (m m ⁻¹)	P Recuperação, %	N Recuperação, %
0,25	103,2	99,3
0,33	100,4	94,8
0,50	98,8	100,0
0,75	96,3	90,7
1,0	97,7	87,5

Em seguida, foi realizada a análise de variância com o intuito de verificar o comportamento do ajuste do modelo da regressão gerada em relação às curvas observadas. A Tabela 8 então mostra que a regressão é significativamente diferente dos resíduos, porém o modelo apresenta falta de ajuste. A fim de contornar este problema, foi verificada a possibilidade de remover pontos da curva para obter regressões que se ajustassem aos modelos preditos. No entanto, a remoção de até 5 pontos da curva, a considerar os de maiores sinais analíticos, não favoreceu melhorias na regressão que fosse verificada pelo Teste F. Em seguida, a Tabela 9 mostra as recuperações obtidas nas quantificações de N e P para diferentes curvas SS-MLPC, variando de curvas com 10 pontos (10 - 100%) até curvas com 5 pontos (10 - 50%).

Tabela 8. Análise de Variância para as regressões SS-MLPC de N e P em todas as condições de concentração do padrão analítico.

C ^{padrão}	N				P			
	Regressão/Resíduos		Falta de ajuste/Erro puro		Regressão/Resíduos		Falta de ajuste/Erro puro	
	F ^{calc}	F ^{tab}	F ^{calc}	F ^{tab}	F ^{calc}	F ^{tab}	F ^{calc}	F ^{tab}
0,25	2141,35	4,20	15,61	2,45	3105,00	4,20	13,81	2,45
0,33	2844,92	4,20	11,21	2,45	2706,38	4,20	22,24	2,45
0,50	4533,908	4,196	8,72	2,45	4830,422	4,196	8,19	2,45
0,75	7555,78	4,20	4,02	2,45	6377,31	4,20	4,85	2,45
1,0	6625,07	4,20	3,36	2,45	6625,07	4,20	3,36	2,45

Tabela 9. Recuperação de N de P para curvas SS-MLPC com diferentes quantidades de pontos.

Curva SS-MLPC para N						
C padrão	10-100%	10-90%	10-80%	10-70%	10-60%	10-50%
	Recuperação, %	Recuperação, %	Recuperação, %	Recuperação, %	Recuperação, %	Recuperação, %
0,25	99	102	104	101	96	94
0,33	95	97	97	97	96	93
0,50	100	100	100	100	104	103
0,75	91	93	93	93	95	94
1,0	87	90	91	91	94	92
Curva SS-MLPC para P						
C padrão	10-100%	10-90%	10-80%	10-70%	10-60%	10-50%
	Recuperação, %	Recuperação, %	Recuperação, %	Recuperação, %	Recuperação, %	Recuperação, %
0,25	103	103	102	104	104	109
0,33	100	99	101	101	99	100
0,50	99	99	101	99	97	104
0,75	96	96	97	96	95	102
1,0	98	97	97	96	94	99

É possível observar que mesmo eliminando os pontos mais intensos das curvas de calibração, as recuperações obtidas para todos os casos compreendem a faixa de 91% a 109%.

Também foi avaliada a possibilidade de remover os pontos de menor intensidade de sinal. Porém, analogamente, as recuperações mantêm uma faixa satisfatória, enquanto a ANOVA indica que há falta de ajuste no modelo de regressão. Todavia, foi realizado o teste t não pareado para comparação entre médias de todas as curvas avaliadas. A Tabela 10 mostra os resultados de t calculado em comparação ao t tabelado, em que em todos os casos $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$. Isso indica que ainda que as regressões apresentam falta de ajuste, todas as médias são comparáveis ao nível de 95% de confiança.

Tabela 10. Teste t não pareado para comparação entre médias ao nível de 95% de confiança para curvas de calibração SS-MLPC em diferentes faixas de calibração para N e P.

Faixa de calibração	Espécie	0,25% (m m^{-1})	0,33 (m m^{-1})	0,75 (m m^{-1})	1,0 (m m^{-1})
10-100%	N	0,01	0,06	0,12	0,16
	P	2,39	1,06	1,70	0,74
10-90%	N	0,02	0,03	0,09	0,13
	P	2,76	0,04	2,00	0,96
10-80%	N	0,05	0,04	0,09	0,12
	P	1,41	1,47	2,71	0,10
10-70%	N	0,01	0,03	0,09	0,11
	P	2,61	1,94	2,15	2,15
10-60%	N	0,02	0,04	0,03	0,04
	P	2,34	2,72	1,84	1,88
10-50%	N	0,03	0,06	0,02	0,04
	P	1,92	1,54	0,74	1,87
20-90%	N	0,10	0,05	0,01	0,05
	P	2,67	0,65	1,78	0,50
30-100%	N	0,12	0,05	0,01	0,06
	P	2,73	0,24	2,18	0,86
20-90%	N	0,11	0,05	0,02	0,04
	P	2,44	0,78	1,21	0,61
20-80%	N	0,14	0,04	0,01	0,05
	P	2,67	0,57	1,13	0,41

t tabelado: 2,78

Então, a fim de compreender o modelo proposto, foi avaliado o comportamento do coeficiente angular das curvas de calibração em relação à concentração do padrão. Foi possível inferir que existe uma proporcionalidade inversa entre a concentração do padrão utilizado na curva de calibração e os coeficientes angulares. Considerando a condição de amostra ($0,50\% \text{ m m}^{-1}$ de N e de P) e do padrão ($0,50\% \text{ m m}^{-1}$ de N e P) igual a condição 1:1, é possível notar que quando a razão $C^{\text{padrão}}/C^{\text{amostra}}$ dobra, a razão entre os coeficientes angulares diminui pela metade. A Tabela 11 mostra os resultados das demais condições.

Tabela 11. Relações entre as variações das concentrações dos padrões utilizados na calibração SS-MLPC e os coeficientes angulares das retas.

Concentração da amostra % (m m ⁻¹)	Concentração do padrão % (m m ⁻¹)	Coeficiente angular		Proporção C ^{std} /C ^{sam}	Razão inversa entre os coeficientes angulares	
		P	N		P	N
0,50	0,25	2,063	1,986	0,50	0,48	0,50
0,50	0,33	1,521	1,437	0,66	0,65	0,70
0,50	0,50	0,988	1,000	1,00	1,00	1,00
0,50	0,75	0,642	0,605	1,50	1,54	1,65
0,50	1,00	0,489	0,438	2,00	2,02	2,28

O coeficiente angular das curvas é fundamental para o modelo das calibrações com padrão único. A fim de avaliar como o coeficiente angular das curvas varia em relação ao número de pontos da curva de calibração – considerando as faixas descritas na Tabela 9 anterior – foi plotado o gráfico apresentado na Figura 18 que segue.

Nesta figura, para fósforo e nitrogênio, é possível notar que há pouca variação da inclinação ao passo que muda a quantidade de pontos da curva. Logo, o número de pontos não afetou significativamente o coeficiente angular.

Com a intenção de entender os fatores que afetam a precisão do modelo proposto, um estudo foi realizado, considerando as calibrações SS-MLPC com diferentes números de réplicas. Foi levado em conta o número de 5 até 30 réplicas e avaliada a recuperação de N e P nestas condições experimentais. Foi observado, como indica a Tabela 12, que o aumento do número de réplicas não interfere significativamente na recuperação para cada condição de calibração, independentemente do número de pontos das curvas analíticas.

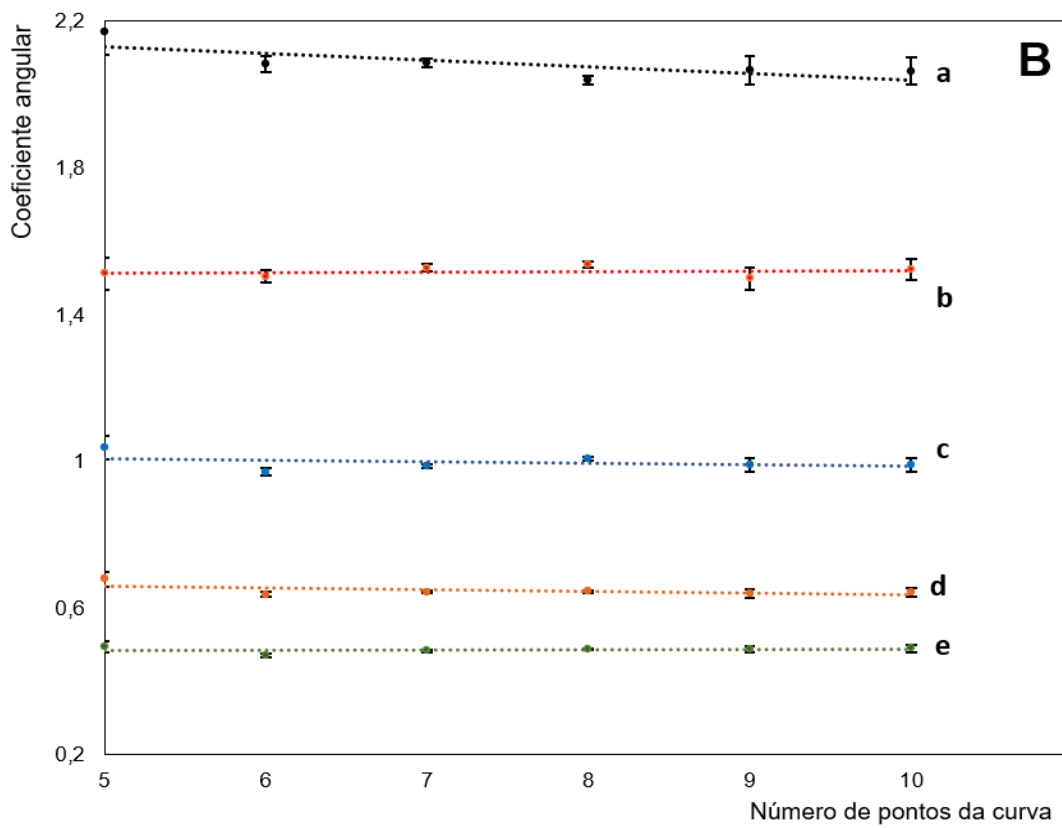
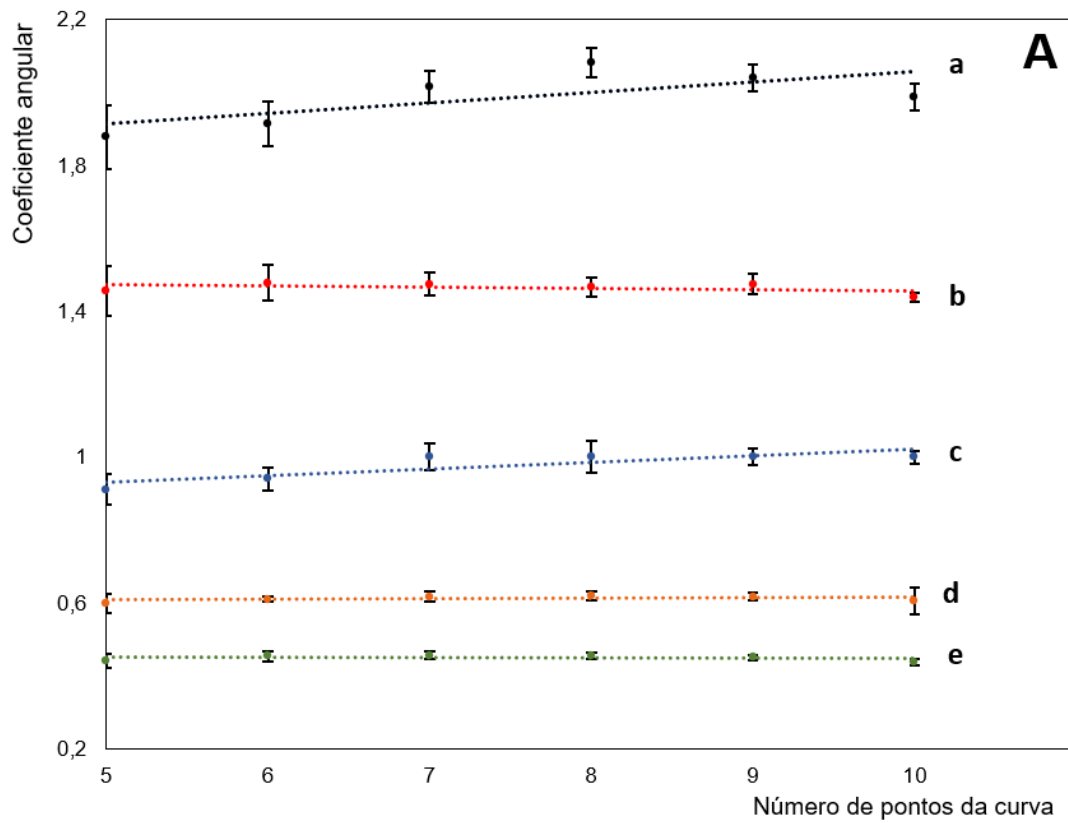


Figura 18. Coeficientes angulares das curvas de calibração SS-MLPC em função do número de pontos da curva empregado padrão de 0,25 (a), 0,33, (b) 0,50, (c) 0,75, (d) 1,0 mol L⁻¹ (e) de N (A) e P (B). Fonte: Própria autora.

Tabela 12. Recuperações de P (% m m⁻¹) obtidas em diferentes faixas de calibração e réplicas.

Curva de calibração na faixa de 10-100% da potência máxima do laser						
	30 réplicas	25 réplicas	20 réplicas	15 réplicas	10 réplicas	5 réplicas
Coefficiente angular	2,272	2,276	2,288	2,297	2,259	2,248
[P]	0,57	0,57	0,57	0,57	0,56	0,56
Recuperação, %	114%	114%	114%	115%	113%	112%
Curva de calibração na faixa de 10-90% da potência máxima do laser						
Coefficiente angular	2,156	2,153	2,157	2,155	2,136	2,167
[P]	0,54	0,54	0,54	0,54	0,53	0,54
Recuperação, %	108%	108%	108%	108%	107%	108%
Curva de calibração na faixa de 10-80% da potência máxima do laser						
Coefficiente angular	2,203	2,204	2,195	2,191	2,185	2,213
[P]	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Recuperação, %	110%	110%	110%	110%	109%	111%
Curva de calibração na faixa de 10-70% da potência máxima do laser						
Coefficiente angular	2,202	2,199	2,175	2,171	2,146	2,206
[P]	0,55	0,55	0,54	0,54	0,54	0,55
Recuperação, %	110%	110%	109%	109%	107%	110%
Curva de calibração na faixa de 10-60% da potência máxima do laser						
Coefficiente angular	2,278	2,275	2,269	2,265	2,224	2,286
[P]	0,57	0,57	0,57	0,57	0,56	0,57
Recuperação, %	114%	114%	113%	113%	111%	114%
Curva de calibração na faixa de 10-50% da potência máxima do laser						
Coefficiente angular	2,186	2,167	2,165	2,154	2,073	2,123
[P]	0,55	0,54	0,54	0,54	0,52	0,53
Recuperação, %	109%	108%	108%	108%	104%	106%

O estudo também revelou que há pouca variação de desvio padrão em relação ao número de réplicas de cada uma das curvas. Sendo assim, o método se apresenta robusto e permite a análise realizada em poucas réplicas e a obtenção de resultados mais rápidos.

Com o intuito de entender como a potência do laser influencia a medida dos desvios padrões, foi elaborado um gráfico da distribuição dos desvios em função da potência aplicada do laser, para uma solução padrão de fósforo 0,50% m m⁻¹, em 15 réplicas, com margem aceitável de $\pm \sigma$. Nota-se pela análise do gráfico (Figura 19) que a distribuição dos desvios

apresenta um comportamento aleatório quando em função da potência do laser, logo, não há um comportamento tendencioso provocado pela variação da potência do laser aplicada.

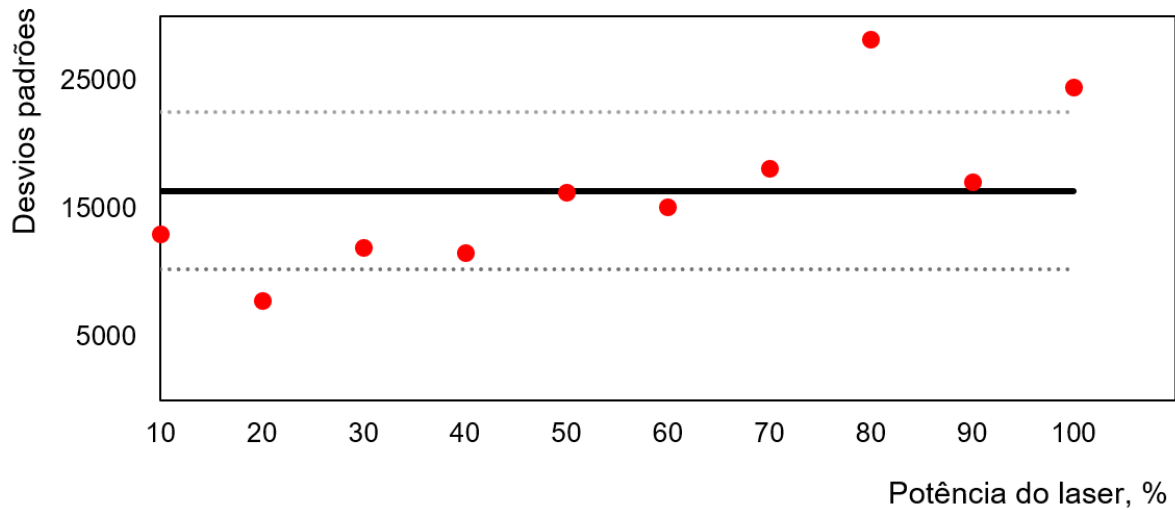


Figura 19. Desvio padrão de uma solução de P 0,50% (m m^{-1}) em função da potência aplicada do laser. Fonte: Própria autora.

E, por fim, as médias das áreas observadas foram divididas pelas áreas previstas pela regressão com o intuito de obter os valores normalizados e distribuí-los em função da potência. A Figura 20 mostra a distribuição para uma solução de P 0,50% (m m^{-1}), e é possível inferir que o primeiro ponto da curva de calibração apresenta um desvio significativo.

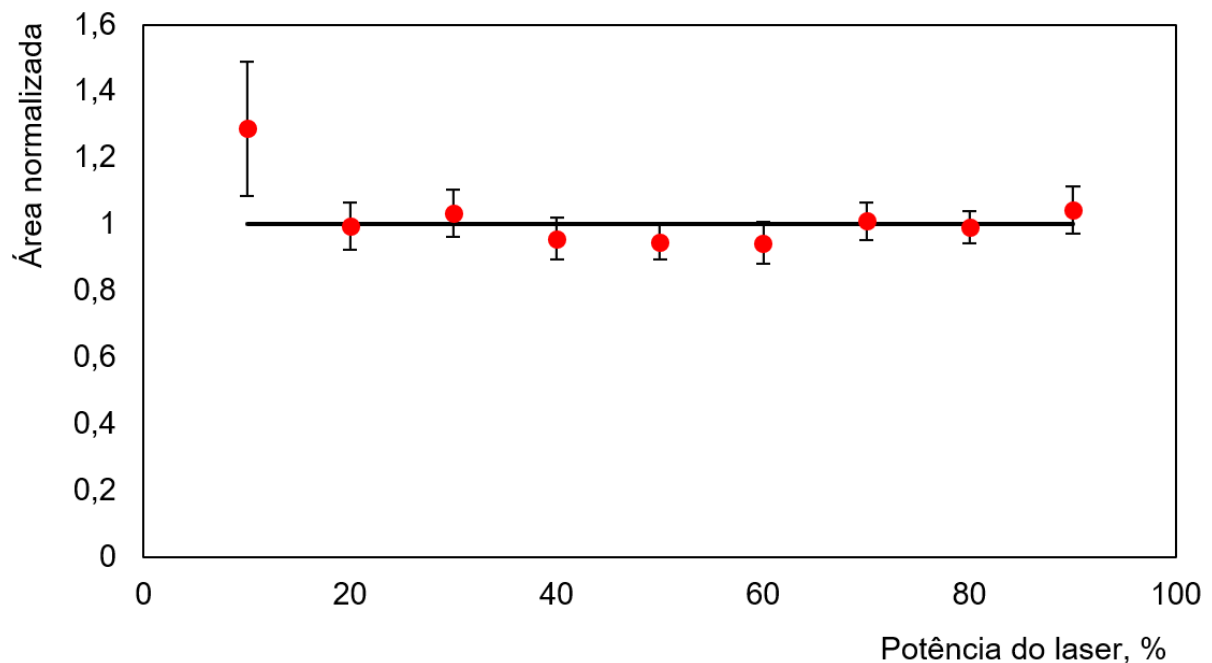


Figura 20. Distribuição da área normalizada e seus respectivos desvios padrão para uma solução padronizada de P 0,50% (m m^{-1}). Fonte: Própria autora

Embora os estudos de ANOVA e da precisão do modelo não apresentem resultados que justifique a exclusão de pontos na curva, a Figura 20 mostra que o ponto referente à potência

de 10% do laser apresenta um desvio significativo. Então, neste caso específico, a exclusão do ponto destoante pode ser explicada. Assim, a faixa de 20-90% de potência do laser para curvas SS-MLPC foi aplicada.

5.4.4. Calibração Multiponto com padrão único (SS-MPC)

A proposta de calibração aqui apresentada avalia a possibilidade de gerar diferentes intensidades de espalhamento a partir de uma única solução padrão, submetida a variação de algum parâmetro operacional, de modo a produzir vários pontos. Esta calibração é denominada calibração multiponto com padrão único (SS-MPC) e não requerer o preparo de inúmeras soluções padrão para a obtenção de uma curva de calibração, sendo mais simples, rápida e com menor geração de resíduos quando comparada a calibração externa convencional.

O parâmetro operacional escolhido para produzir diferentes intensidades dos sinais de espalhamento Raman foi a potência do laser, desmembrando a SS-MPC em SS-MLPC. Esse parâmetro foi escolhido uma vez que a variação da potência aplicada apresenta uma razão sinal/ruído maior do que a observada com a variação do tempo de integração. Então, o estudo para determinar a faixa ideal da porcentagem da potência máxima foi conduzido.

Além dos estudos demonstrados na secção 5.4.3, também foi observado que em potências inferiores a 20%, as bandas pouco sensíveis apresentam intensidades próximas aos ruídos espectrais, em contrapartida, em potências superiores a 90%, as bandas mais sensíveis saturaram o espectro. Isso inviabilizava a obtenção das informações qualitativas e quantitativas buscadas. Desta forma, a faixa de 20% a 90% da potência do laser foi escolhida para a calibração.

Posteriormente, foram gerados espalhamentos de diferentes intensidades a partir da variação da porcentagem de potência do laser, tanto para uma solução padrão, quanto para uma amostra. A SS-MPC e/ou SS-MLPC se pauta no fato de que a intensidade do sinal analítico é proporcional à concentração, tanto para o padrão quanto para a amostra. A equação utilizada para a determinação da concentração da amostra é dada pela Equação 06 descrita na secção 2.5.

O gráfico construído a partir do sinal da amostra (eixo y) em função do sinal do padrão (eixo x) produz uma reta cujo coeficiente angular corresponde a razão entre a concentração da amostra e a concentração do padrão. A Figura 21 exemplifica a curva obtida para SS-MLPC.

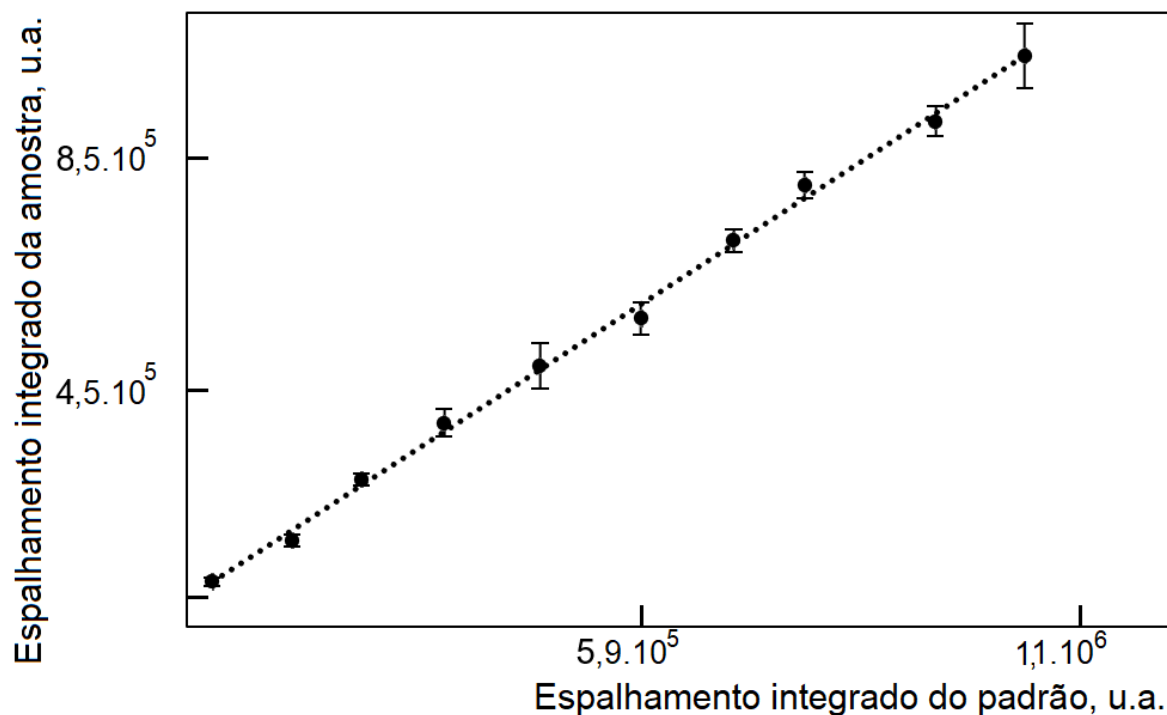


Figura 21. Curva de calibração SS-MLPC. Fonte: Própria autora.

Dez amostras de fertilizantes NPK comerciais, previamente analisadas qualitativamente, foram submetidas à análise quantitativa por SS-MLPC. A quantificação dos teores totais de nitrogênio e fósforo nos insumos analisados considerou a espécie de N (ureia e nitrato) e P (fosfato e fosfito) de cada insumo. Os resultados obtidos neste estudo estão organizados na Tabela 13.

As 10 amostras de fertilizantes comerciais analisadas por SS-MLPC apresentaram teores de N e P com diferença $< 15\%$ do valor declarado pelo fabricante. Os teores de N variaram entre 86% e 110% do nominal, enquanto os teores de P apresentaram um intervalo de 87% a 109% do declarado em rótulo. Também é importante frisar os resultados obtidos para as amostras 5 e 6 que continham ambas as espécies de fósforo (HPO_3^{2-} e PO_4^{3-}) e apresentaram respectivamente 97% e 98% do teor nominal declarado esperado, quando considerada a soma das fontes deste elemento, demonstrando desta maneira que a especificação de P e quantificação podem ser realizadas de forma simultânea por meio desta técnica.

Para a validação dos resultados obtidos foram realizados testes estatísticos de significância e a determinação de N e P através de métodos comparativos.

Para nitrogênio, foi utilizada a determinação por destilação Kjeldahl para comparação entre métodos. Para isso, as amostras foram preparadas adequadamente, como descrito na seção 4.3 deste trabalho, os quais envolveram a redução de NO_3^- à NH_4^+ , e digestão prévia de $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ a fim de obter NH_4^+ . Em relação ao P, a espectrofotometria foi utilizada para

comparação dos métodos, cuja determinação de P foi dada através da reação da amostra com vanadomolibidênio, e as amostras foram preparadas de acordo com o método oficial (MAPA, 2017), também descrito na seção 4.3. A Tabela 14 abaixo mostra a comparação dos resultados obtidos pelos diferentes métodos, e do Test t de Student pareado (para comparação entre métodos) aplicado.

Os resultados expressos para as amostras 5 e 6 em relação ao teor total de P é referente à somatória do teor de P-fosfito e P-fosfato, e seus respectivos desvios padrões consideram adequadamente a propagação de erros conforme a Equação 19.

$$S_1 = \sqrt{(s_2)^2 + (s_3)^2 \dots + (s_n)^2} \quad (\text{Eq. 19})$$

onde S_2 , S_3 e S_n são os desvios dos teores que foram submetidos à somatória e S_1 é o desvio do novo teor calculado (CHRISTIAN; DASGUPTA; SCHUG, 2014).

Os valores apresentados na Tabela 13 indicam que o método de calibração SS-MLPC apresentou resultados precisos e exatos na determinação de P e N para amostras de fertilizantes comerciais. Ainda, todas as determinações apresentaram resultados precisos ao nível de 95% de confiança. Por fim, a utilização da técnica Raman associada a SS-MLPC permite não só obter análises robustas e com menor geração de resíduos como também propicia a identificação das espécies provenientes de N e P das amostras com facilidade e rapidez.

Tabela 13. Determinação de N e P em fertilizantes líquidos por SS-MLPC

Amostra	Nominal N (% m.m ⁻¹)	Teor determinado N (% m.m ⁻¹)		Nominal P (% m.m ⁻¹)	Teor determinado P (% m.m ⁻¹)	
		% N (Ureia)	% N (Nitrato)		% P (Fosfito)	% P (Fosfato)
		1	10		9,5 ± 0,4	0
2	4	3,6 ± 0,1	0	14	0	13,9 ± 0,1
3	0	0	0	30	32,6 ± 1,0	0
4	0	0	0	40	38,6 ± 2,5	0
5	5	4,3 ± 0,9	0	25	18,2 ± 2,1	6,1 ± 1,2
6	2	2,2 ± 0,5	0	22	15,1 ± 1,6	6,5 ± 0,3
7	7,5	0	7,7 ± 0,1	0	0	0
8	7	0	6,8 ± 0,2	0	0	0
9	7	0	6,8 ± 0,4	0	0	0
10	7	0	7,0 ± 0,2	0	0	0

Tabela 14. Resultados referente à validação de SS-MLPC de N por Kjeldahl e P por Espectrofotometria e seus referentes valores de t calculado e t tabelado considerando o nível de 95% de confiança.

Amostra	N				P			
	SS-MLPC	Kjeldahl	t _{calc}	t _{tab}	SS-MLPC	Espectrofotometria	t _{calc}	t _{tab}
	N (% m m ⁻¹)	N (% m m ⁻¹)			P (% m m ⁻¹)	P (% m m ⁻¹)		
1	9,5 ± 0,4	10,4 ± 0,1	2,19	2,92	8,7 ± 0,8	8,0 ± 1,2	2,76	2,92
2	3,6 ± 0,1	3,7 ± 0,1	1,60	2,92	13,9 ± 0,1	14,6 ± 1,6	2,10	2,92
3	-	-	-	-	32,6 ± 1,0	34,5 ± 1,1	1,01	2,92
4	-	-	-	-	38,6 ± 2,5	40,8 ± 1,6	0,99	2,92
5	4,3 ± 0,9	5,1 ± 0,1	0,56	2,92	24,3 ± 2,4	24,9 ± 3,0	0,51	2,92
6	2,2 ± 0,5	2,0 ± 0,1	0,37	2,92	21,6 ± 1,3	25,5 ± 1,5	1,09	2,92
7	7,7 ± 0,1	7,6 ± 0,2	0,25	2,92	-	-	-	-
8	6,8 ± 0,2	7,0 ± 0,5	0,46	2,92	-	-	-	-
9	6,8 ± 0,4	6,5 ± 0,6	0,57	2,92	-	-	-	-
10	7,0 ± 0,2	6,4 ± 0,4	1,30	2,92	-	-	-	-

5.4.5. Calibração com único padrão com dois pontos (SS-TPC)

A proposta de calibração com único padrão com dois pontos visa simplificar a análise quantitativa, uma vez que requer apenas uma solução padrão de calibração. O método requer que o padrão e a amostra sejam submetidos a análise em duas potências de laser diferentes (P_1 , P_2). Então, os sinais obtidos (S_1 e S_2) são plotados em função da potência aplicada, definindo um trapézio regular, como indicado na Figura 6, cuja concentração da amostra é definida pela Equação 08.

Para esta abordagem (SS-TPC), com exceção da amostra 6 que apresentou teor de N determinado de 65% do valor esperado, as demais amostras analisadas apresentaram teores de N e P com diferença inferior a 16% do valor nominal declarado. Os teores calculados de N para esta estratégia variaram entre 84% e 110% do nominal, já os teores de P apresentaram um intervalo de 98% a 108% do declarado. Novamente destacam-se os resultados obtidos para as amostras 5 e 6, que apresentaram ambas 98% do teor declarado.

De maneira análoga à descrita na seção 5.4.4, a validação dos resultados obtidos foi realizada por meio de testes estatísticos de significância e a determinação de N e P através de métodos comparativos, sendo Kjeldahl e Espectrofotometria respectivamente. A Tabela 16 mostra a comparação dos resultados obtidos pelos diferentes métodos, e do Test t de Student pareado aplicado. Os teores de P indicados na Tabela 15 para as amostras 5 e 6 são referentes à somatória dos teores de P-fosfato e P-fosfito, cujos desvios padrões foram calculados adequadamente por meio da Equação 19.

As 10 amostras de fertilizantes foram submetidas à análise adotando essa abordagem e os resultados obtidos estão organizados na Tabela 16.

A discussão pode ser comparável à discussão feita para SS-MLPC. Na *Single Standard Two-point Calibration* os resultados foram precisos e exatos na determinação de P e N para amostras de fertilizantes comerciais. E, também, associada à Espectroscopia Raman, é possível identificar e quantificar as espécies de N e P simultaneamente.

Tabela 15. Determinação de N e P em fertilizantes líquidos por SS-TPC

Amostra	Nominal N (% m.m ⁻¹)	Teor determinado N (% m.m ⁻¹)		Nominal P (% m.m ⁻¹)	Teor determinado P (% m.m ⁻¹)	
		% N (Ureia)	% N (Nitrato)		% P (Fosfito)	% P (Fosfato)
		1	10		9,4 ± 0,2	0
2	4	3,9 ± 0,1	0	14	0	13,9 ± 0,1
3	0	0	0	30	31,6 ± 2,4	0
4	0	0	0	40	41,8 ± 1,9	0
5	5	5,0 ± 0,1	0	25	19,4 ± 0,2	5,2 ± 0,3
6	2	1,3 ± 0,5	0	22	15,2 ± 1,2	6,3 ± 0,9
7	7,5	0	8,1 ± 0,9	0	0	0
8	7	0	6,5 ± 0,5	0	0	0
9	7	0	7,5 ± 0,5	0	0	0
10	7	0	7,7 ± 1,0	0	0	0

Tabela 16. Resultados referente à validação de SS-TPC de N por Kjeldahl e P por Espectrofotometria e seus referentes valores de t calculado e t tabelado considerando o nível de 95% de confiança.

Amostra	N				P			
	SS-MLPC	Kjeldahl	t _{calc}	t _{tab}	SS-MLPC	Espectrofotometria	t _{calc}	t _{tab}
	N (% m m ⁻¹)	N (% m m ⁻¹)			P (% m m ⁻¹)	P (% m m ⁻¹)		
1	9,4 ± 0,2	10,4 ± 0,1	2,72	2,92	9,8 ± 0,6	8,0 ± 1,2	2,73	2,92
2	3,9 ± 0,1	3,7 ± 0,1	0,76	2,92	13,9 ± 0,1	14,6 ± 1,6	1,01	2,92
3	-	-	-	-	31,9 ± 2,4	34,5 ± 1,1	2,72	2,92
4	-	-	-	-	41,8 ± 1,9	40,8 ± 1,6	1,12	2,92
5	5,0 ± 0,1	5,1 ± 0,1	0,37	2,92	24,6 ± 0,4	24,9 ± 3,0	0,32	2,92
6	2,3 ± 0,5	2,0 ± 0,1	0,62	2,92	21,5 ± 1,5	22,5 ± 1,5	1,17	2,92
7	8,1 ± 0,9	7,6 ± 0,2	0,90	2,92	-	-	-	-
8	6,5 ± 0,5	7,0 ± 0,5	1,02	2,92	-	-	-	-
9	7,5 ± 0,5	6,5 ± 0,6	1,90	2,92	-	-	-	-
10	7,7 ± 1,0	6,4 ± 0,4	2,16	2,92	-	-	-	-

5.4.6. Calibração externa (EC)

A calibração externa é o método convencional de determinação quantitativa através da interpolação do sinal da amostra em uma curva produzida a partir de sinais gerados por diferentes soluções com concentrações crescentes de padrão.

Para este estudo, a calibração externa foi performada por meio de sinais de espalhamento Raman obtidos em 30 s de integração e 50% da potência máxima do laser. Para cada espécie química estudada foi plotada uma curva de área integrada do sinal referente ao deslocamento Raman característico, em função da concentração do padrão. As curvas de calibração compreendem as faixas de 0,05 a 1,0% (m m^{-1}) (N, ureia), 0,05 a 0,5% (m m^{-1}) (N, nitrato), 0,1 a 2,0% (m m^{-1}) (P, fosfato) e 0,1 a 2,0% (m m^{-1}) (P, fosfito). As curvas de calibração para nitrato e ureia apresentaram, respectivamente, coeficientes de correlação linear iguais a $r = 0,9981$ e $r = 0,9975$. Para fosfato e fosfito, apresentaram $r = 0,9932$ e $r = 0,9982$, respectivamente. A Figura 22 mostra as curvas analíticas para calibração externa dessas espécies.

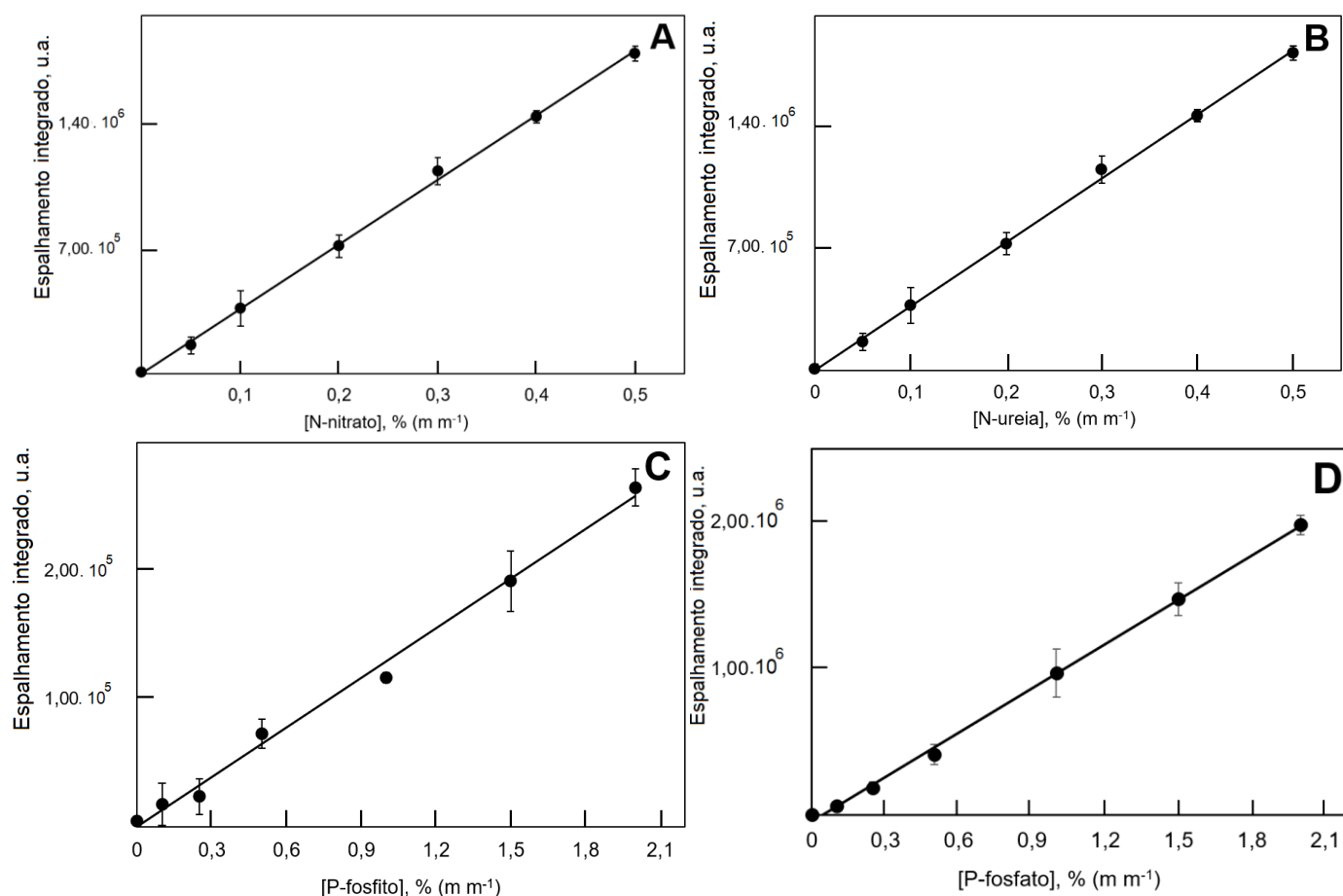


Figura 22. Calibração externa para (A) nitrato (1045 cm^{-1}); (B) ureia (1000 cm^{-1}); (C) fosfito (2340 cm^{-1}) e (D) fosfato (850 cm^{-1}). Fonte: Própria autora.

As amostras de fertilizantes foram analisadas nas mesmas condições, e a Tabela 17 resume os resultados obtidos.

Para a calibração externa, os valores obtidos apresentaram erros menores que 15% do valor nominal, tanto para N quanto para P. Esses resultados são semelhantes com os obtidos pelas calibrações SS-MLPC e SS-TPC já apresentadas, que culminam para uma forma mais simples e rápida de análise.

Para tanto, também foi realizada a validação dos resultados por meio de testes estatísticos de significância e a determinação de N e P através de métodos comparativos, sendo Kjeldahl e Espectrofotometria respectivamente. A Tabela 18 mostra a comparação dos resultados obtidos pelos diferentes métodos, e do Test t de Student pareado (para comparação entre métodos) aplicado. Os teores de P indicados na Tabela 18 para as amostras 5 e 6 são referentes à somatória dos teores de P-fosfato e P-fosfito, cujos desvios padrões foram calculados adequadamente por meio da Equação 19.

A discussão pode ser comparável à discussão feita para SS-MLPC e SS-TPC. Na calibração convencional externa os resultados foram precisos e exatos na determinação de P e N para amostras de fertilizantes comerciais. E, também, associada à Espectroscopia Raman, é possível identificar e quantificar as espécies de N e P simultaneamente.

Tabela 17. Determinação de N e P em fertilizantes NPK por Calibração Externa.

Amostra	Nominal N (% m m ⁻¹)	Teor determinado N (% m m ⁻¹)		Nominal P (% m m ⁻¹)	Teor determinado P (% m m ⁻¹)	
		% N (Ureia)	% N (Nitrato)		% P (Fosfito)	% P (Fosfato)
		1	10		9,5 ± 0,1	0
2	4	3,5 ± 0,4	0	14	0	15,3 ± 1,1
3	0	0	0	30	32,9 ± 1,7	0
4	0	0	0	40	41,9 ± 2,2	0
5	5	5,3 ± 0,4	0	25	20,7 ± 0,2	5,6 ± 0,6
6	2	2,0 ± 0,6	0	22	16,3 ± 0,9	5,6 ± 0,9
7	7,5	0	7,9 ± 0,1	0	0	0
8	7	0	7,0 ± 0,1	0	0	0
9	7	0	7,2 ± 0,2	0	0	0
10	7	0	6,9 ± 0,1	0	0	0

Tabela 18. Resultados referente à validação de EC de N por Kjeldahl e P por Espectrofotometria e seus referentes valores de t calculado e t tabelado considerando o nível de 95% de confiança.

Amostra	N				P			
	EC	Kjeldahl	t _{calc}	t _{tab}	EC	Espectrofotometria	t _{calc}	t _{tab}
	N (% m m ⁻¹)	N (% m m ⁻¹)			P (% m m ⁻¹)	P (% m m ⁻¹)		
1	9,5 ± 0,1	10,4 ± 0,1	2,2	2,92	9,2 ± 0,1	8,0 ± 1,2	1,97	2,92
2	3,5 ± 0,4	3,7 ± 0,1	1,57	2,92	15,3 ± 1,1	14,6 ± 1,6	0,85	2,92
3	-	-	-	-	32,9 ± 1,7	34,5 ± 1,1	1,97	2,92
4	-	-	-	-	41,9 ± 2,2	40,8 ± 1,6	1,16	2,92
5	5,3 ± 0,4	5,1 ± 0,1	0,56	2,92	26,3 ± 0,6	24,9 ± 3,0	1,29	2,92
6	2,0 ± 0,6	2,0 ± 0,1	0,07	2,92	21,9 ± 1,3	22,5 ± 1,5	1,42	2,92
7	7,9 ± 0,1	7,6 ± 0,2	0,76	2,92	-	-	-	-
8	7,0 ± 0,1	7,0 ± 0,5	0,03	2,92	-	-	-	-
9	7,2 ± 0,2	6,5 ± 0,6	1,42	2,92	-	-	-	-
10	6,9 ± 0,1	6,4 ± 0,4	1,09	2,92	-	-	-	-

5.4.7. Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)

Os limites de detecção e de quantificação foram calculado para cada método de calibração de acordo com a literatura disponível acerca das estratégias empregadas.

Para a calibração externa (EC), seguiu-se a recomendação da IUPAC, o LOD foi calculado a partir da equação abaixo:

$$LOD = \frac{3 \cdot SD^{branco}}{slope} \quad (\text{Eq. 20})$$

Por sua vez, o LOQ foi calculado a partir da seguinte equação:

$$LOQ = \frac{10 \cdot SD^{branco}}{slope} \quad (\text{Eq. 21})$$

Para a *Single Standard Multi-Laser Power Calibration* (SS-MLPC), as fórmulas para o cálculo dos LOD e LOQ foram obtidas através da derivada parcial da Equação 7, com relação ao termo que varia (no caso o coeficiente angular) (VIRGILIO et al., 2020), resultando nas equações:

$$LOD = 3 \cdot C^{padrão} \cdot SD^{slope} \quad (\text{Eq. 22})$$

$$LOQ = 10 \cdot C^{padrão} \cdot SD^{slope} \quad (\text{Eq. 23})$$

E para a calibração com dois pontos com padrão único (SS-TPC), o LOQ e LOD foram calculados de acordo com as equações (VIEIRA et al., 2021):

$$LOD = C^{branco} + 3 SD^{branco} \quad (\text{Eq. 24})$$

$$LOQ = C^{branco} + 10 SD^{branco} \quad (\text{Eq. 25})$$

Os valores de LOD e LOQ obtidos para todos os métodos de calibração estão compilados na Tabela 19.

Embora os cálculos propostos para LOD e LOQ nas calibrações SS-MLPC e SS-TPC sejam propostas recentes na literatura, fica clara a proximidade dos valores obtidos com o método IUPAC empregado no cálculo para a calibração externa, já que os resultados obtidos apresentados na tabela acima demonstraram concordância entre as diferentes formas de calibração.

Tabela 19. Limite de Detecção e Limite de Quantificação dos métodos EC, SS-MLPC e SS-TPC para Fosfato, Fosfito, Nitrato e Ureia em Espectroscopia Raman.

	EC				SS-MLPC				SS-TPC			
	PO ₄ ³⁻	HPO ₃ ²⁻	CH ₄ N ₂ O	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	HPO ₃ ²⁻	CH ₄ N ₂ O	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	HPO ₃ ²⁻	CH ₄ N ₂ O	NO ₃ ⁻
LOD	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01
LOQ	0,06	0,02	0,03	0,02	0,03	0,09	0,04	0,05	0,05	0,05	0,10	0,02

5.5. Análise em Fluxo

Os resultados até então apresentados se basearam na Espectroscopia Raman para a análise qualitativa e quantitativa.

Na análise qualitativa, a técnica permitiu a identificação das espécies de fósforo (fosfato e fosfito), de nitrogênio (nitrato e ureia), enxofre (sulfato), sendo as duas últimas não recorrentes nas amostras estudadas. A limitação da quantificação por Raman se dá na identificação de íons amônio (NH_4^+) – que se apresenta como uma importante fonte de nitrogênio –, e potássio, por se tratar de uma espécie iônica no meio.

Em relação às análises quantitativas, foram avaliadas diferentes formas de calibração, e todas apresentaram resultados promissores. Ou seja, as calibrações com único padrão podem ser consideradas para a análise de rotina de NPK por serem mais simples, demandarem menor quantidade de soluções e gerarem menos resíduos, sendo, portanto, ambientalmente mais amigáveis.

No entanto, a fim de realizar uma análise completa de N, P e K em fertilizantes, é proposto o acoplamento das técnicas Espectroscopia Raman e Espectrometria de Absorção Atômica, combinadas com a química clássica, de forma que seja possível a análise de fosfato, fosfito, nitrato, ureia, amônio e potássio, qualitativamente e quantitativamente, de forma simples e robusta.

5.5.1. Otimização instrumental para análise em HR-CS FAAS

Uma vez que as condições de análise em Espectroscopia Raman já são estabelecidas, esta seção se dedica às otimizações das condições operacionais para análise de N, P e K em Espectrometria de Absorção atômica em Chama com Fonte Contínua e Alta Resolução.

Para isso, foi avaliada a influência da variação do pH do meio nas curvas de resposta por HR-CS FAAS (absorbância x concentração) para nitrato, amônio, uréia e fosfato. Este estudo foi incentivado pelos resultados anteriormente obtidos que revelaram a forte dependência do pH nos espectros Raman para espécies de fósforo.

Dessa forma, foram preparadas curvas de calibração para $\text{P}(\text{PO}_4^{3-})$, $\text{N}(\text{NO}_3^-)$, $\text{N}(\text{NH}_4^+)$ e $\text{N}(\text{CH}_4\text{N}_2\text{O})$ em pH = 1, 4 e 7 (Figura 23). As linhas moleculares utilizadas foram 215,247 nm (NO) e 274,620 nm (PO) e a taxa de aspiração foi de 5 mL min^{-1} . A Figura 23 ilustra que em pH 1 as curvas apresentaram as maiores sensibilidades.

Esta condição foi escolhida porque é favorável para as medidas das espécies de P e N por espalhamento Raman.

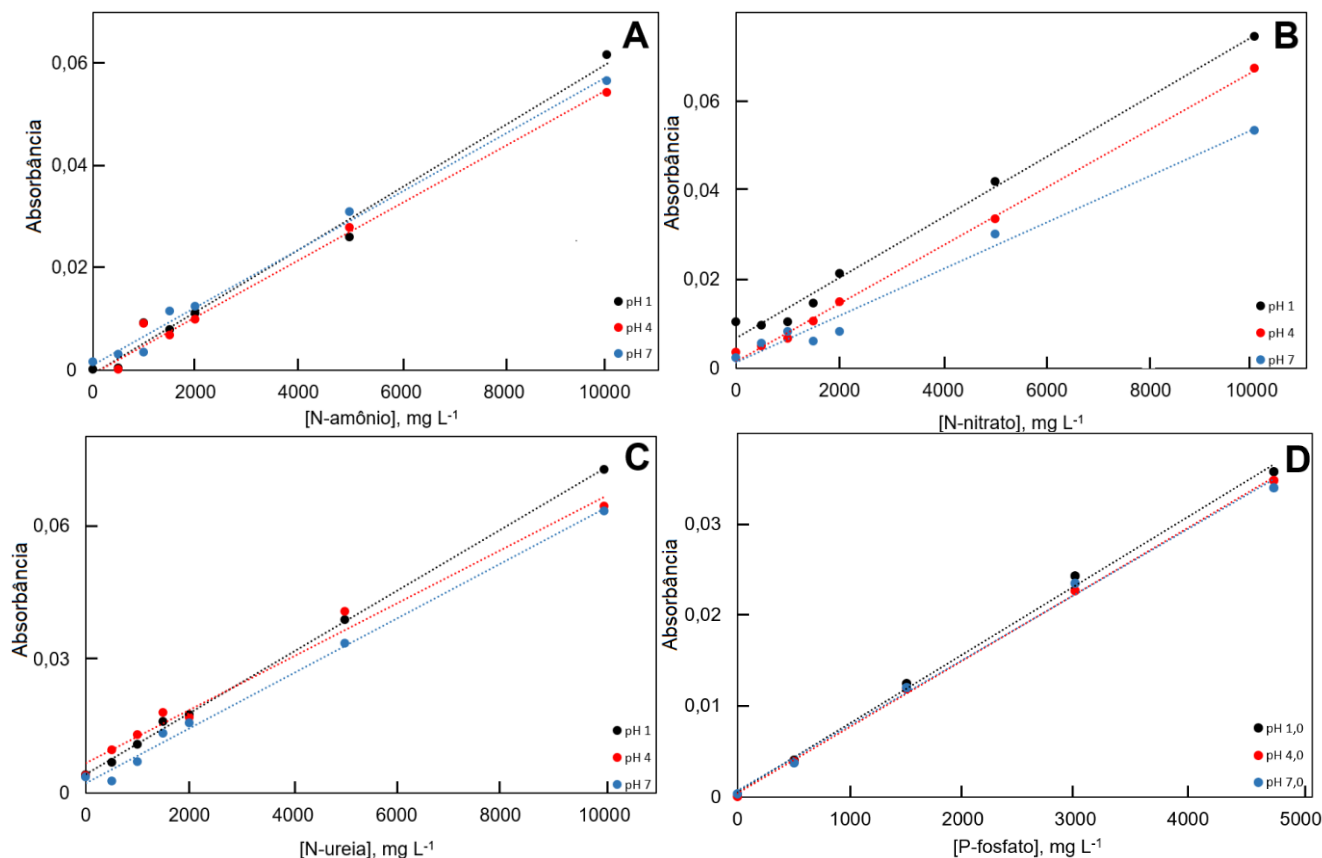


Figura 23. Curvas de resposta para amônio (A), nitrato (B), ureia (C) e fosfato (D) obtidas por HR-CS FAAS em pH = 1, 4 e 7. Fonte: Própria autora.

As medidas foram feitas com base no método desenvolvido por Bechlin e colaboradores (2014). As principais fontes de nitrogênio presentes nas amostras contribuem na geração de NO na chama ar-acetileno. Para que o procedimento seja viável, a sensibilidade não deve ser dependente da natureza do reagente utilizado para preparar a curva. Considerando a importância do oxigênio presente na chama na formação das moléculas de NO e PO e a limitação da relação ar:acetileno na chama, foi avaliada a influência da presença de uma fonte auxiliar de oxigênio.

A Figura 24 ilustra curvas para fosfato e fosfito (A, C, E, G) e para amônio, nitrato e uréia (B, D, F, H) em meio de H₂O₂ nas seguintes concentrações: 0; 2,5; 5 e 10% (v v⁻¹). Análise da Figura 24 revela que o emprego de 5% (v v⁻¹) H₂O₂ produziu curvas praticamente sobreponíveis, independentemente da fonte de N e P. Isso promove robustez ao método por permitir que curvas construídas com diferentes reagentes fontes de N e P sejam compatíveis com as espécies de N e P que compõe as amostras.

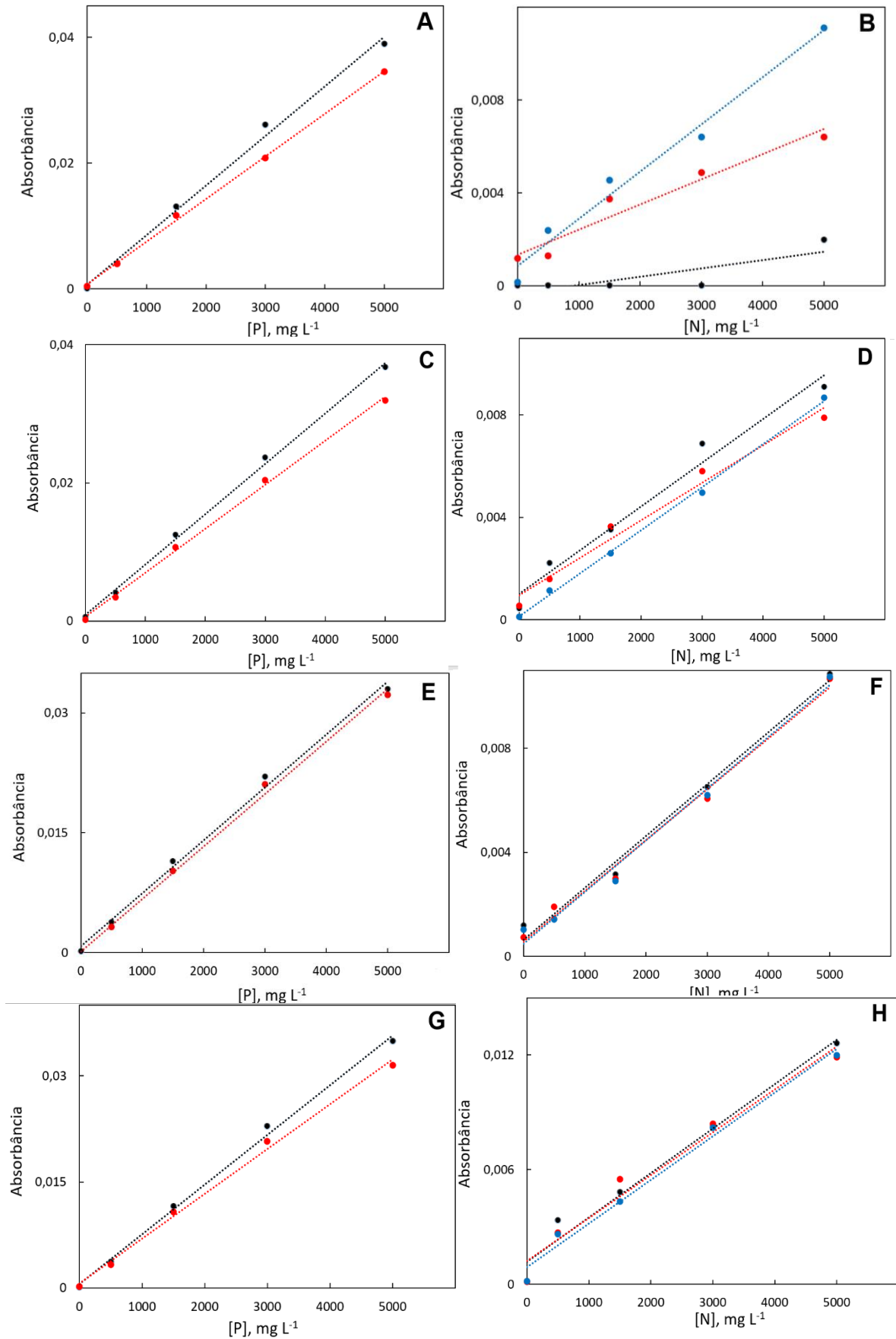


Figura 24. Curvas de calibração para fosfato (—) e fosfito (—) obtidas em meio 0% H₂O₂ (A), 2,5% H₂O₂ (C), 5% H₂O₂ (E) e 10% H₂O₂ (G), e para nitrato (—), ureia (—) e amônio (—) em 0% H₂O₂ (B), 2,5% H₂O₂ (D), 5% H₂O₂ (F) e 10% H₂O₂ (H). Fonte: Própria autora.

Assim, as condições consideradas ótimas e escolhidas para a construção das curvas de calibração para N e P empregam $\text{pH} = 1$ e $5\% \text{ (v v}^{-1}\text{) H}_2\text{O}_2$. No caso da determinação de K, a linha atômica alternativa $344,738 \text{ nm}$ foi escolhida para ajustar a sensibilidade da curva aos teores típicos de K nas amostras sem altas diluições das mesmas. Curvas analíticas típicas para N (NO: $215,2470 \text{ nm}$), P (PO: $247,6200 \text{ nm}$) e K (K: $344,738 \text{ nm}$) estão representadas na Figura 25, e apresentaram equações iguais à: $A = 0,0616 [\text{NO}_3] + 0,0005$ (com coeficientes $R^2 = 0,9957$); $A = 0,2485 [\text{PO}_4] + 0,0012$ (com R^2 iguais $0,9988$); $A = 1,1647 [\text{K}] + 0,0088$ com $R^2 = 0,9914$ (com coeficiente R^2 igual a $0,9914$). Todas as curvas foram construídas no intervalo de 500 a 5000 mg L^{-1} das espécies correspondentes.

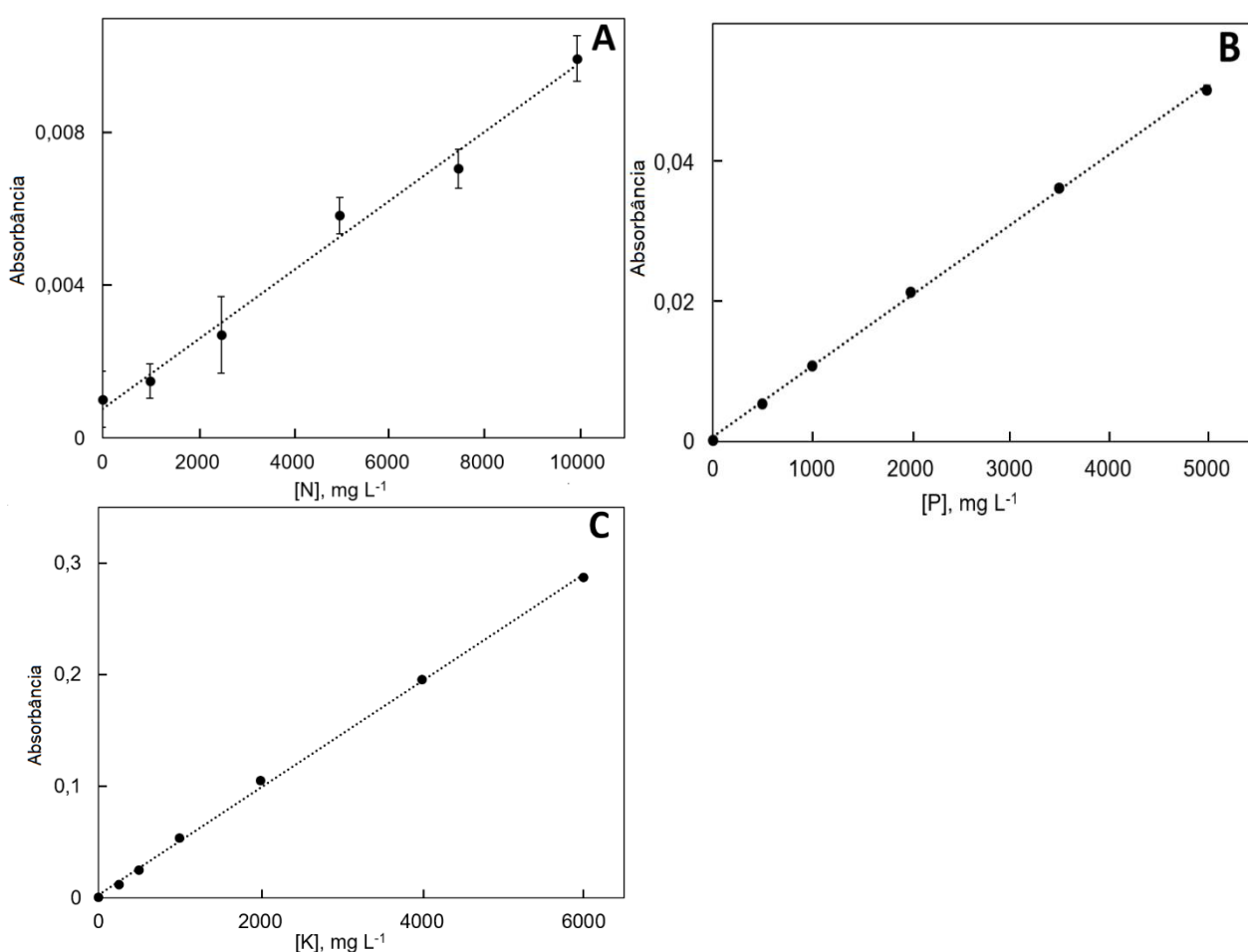


Figura 25. Curvas analíticas para N (A), P (B) e K (C) obtidas por e por HR-CS AAS (N, P e K) em meio $5\% \text{ (v v}^{-1}\text{) H}_2\text{O}_2$ e $\text{pH} = 1$. Fonte: Própria autora.

5.5.2. Acoplamento Espectrometria Raman - HR-CS FAAS

Foi desenvolvido um sistema de análise em fluxo combinando Raman e HR-CS FAAS de forma a identificar a natureza dos compostos de N e P e determinar os teores de N, P e K em fertilizantes.

No sistema de análise em fluxos proposto na Figura 26, a amostra **S** (com pH previamente ajustado a 1) é bombeada a $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ com auxílio de uma bomba peristáltica **P** direcionando a amostra através de uma célula de fluxos para detecção por Raman. Em seguida, a amostra é direcionada a um ponto de confluência **A** onde é misturada com solução $10\% \text{ v v}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$ (também aspirada a uma vazão de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$). Após a mistura na bobina **B**, a solução resultante é direcionada ao sistema de introdução de amostras do espectrômetro HR-CS FAAS, a uma vazão de aproximadamente 5 mL min^{-1} .

Dessa maneira, a amostra é direcionada primeiramente ao espectrômetro Raman, onde é realizada a identificação de P (fosfato e fosfito) e N (nitrato e ureia). Em seguida, a amostra é misturada a uma solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que tem como objetivo fornecer oxigênio para que seja possível a formação as moléculas de NO e PO em chama de ar-acetileno. Logo após, a amostra é aspirada para o espectrômetro de absorção atômica, onde é realizada a análise quantitativa de N, P e K, de maneira complementar.

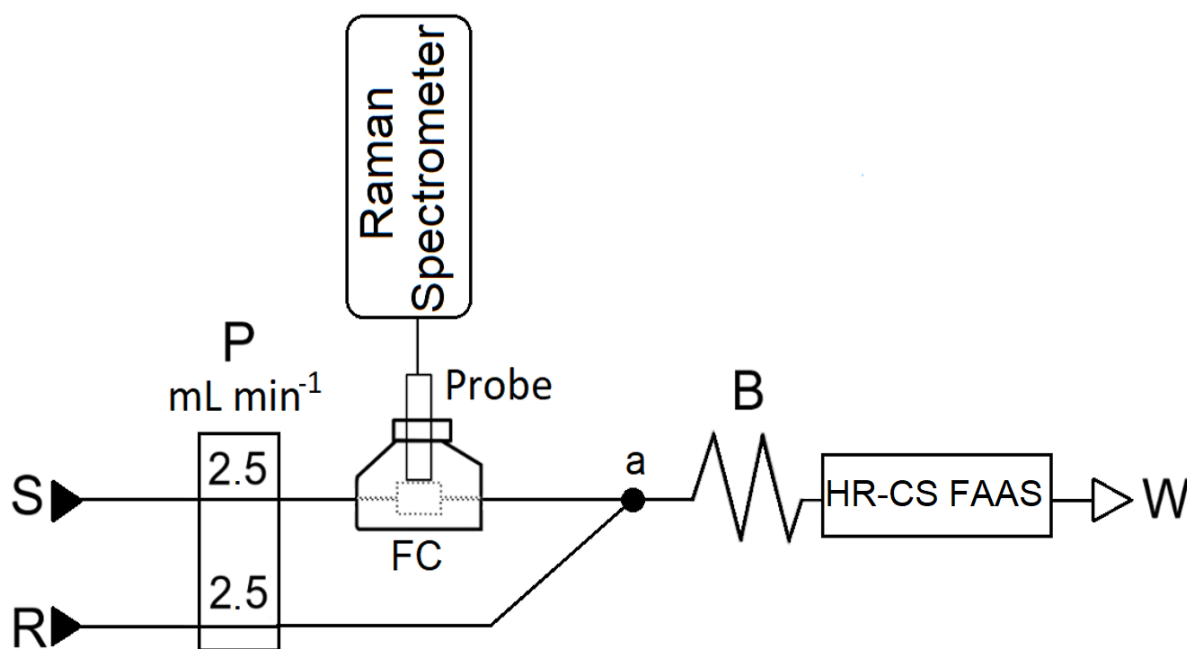


Figura 26. Diagrama do sistema de fluxos desenvolvido e utilizado para as determinações de N, P e K em fertilizantes. S: amostra em pH = 1; R: solução $10\% \text{ v v}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$; números entre parênteses: vazão em mL min^{-1} ; P: bomba peristáltica; a: ponto de confluência; FC: célula de fluxo; B: bobina de mistura; W: descarte. Fonte: Própria autora, adaptado de OLIVEIRA e colaboradores, 2022.

A identificação do íon NH_4^+ não é possível por Espectroscopia Raman dada a limitação do espectrômetro, uma vez que a janela espectral corresponde à $170 - 2700 \text{ cm}^{-1}$, e a literatura indica que a banda correspondente ao íon NH_4^+ é localizada na região $3000 - 3300 \text{ cm}^{-1}$. Sendo assim, para a análise qualitativa e quantitativa do fertilizante, inicialmente a amostra é submetida ao teste qualitativo de identificação da presença de amônio no meio. Esse teste consiste em adicionar diretamente na amostra de fertilizante diluída, cerca de 10 gotas de NaOH 4 mol L^{-1} , e aquecer cuidadosamente o sistema (que pode ser um tubo de ensaio) com um papel tornassol vermelho umedecido com água destilada na borda do tubo. Se este se tornar azul, é indicada a presença de NH_4^+ na amostra.

Em seguida, através do sistema em fluxo é realizada a identificação das demais espécies de N, tais como ureia e nitrato, por Raman. Por fim, é feita quantificação do teor total de N por meio da linha $215,247 \text{ nm}$ referente ao NO em HR-CS FAAS. Se o teste clássico qualitativo para amônio for positivo, o teor de N de cada espécie pode ser estimado através da Equação 26:

$$[\text{N-NH}_4^+] = [\text{N-total}]^{\text{HR-CS FAAS}} - ([\text{N-NO}_3^-] + [\text{N-ureia}])^{\text{Raman}} \quad (\text{Eq. 26})$$

Ou seja, o nitrogênio referente ao amônio pode ser estimado pela diferença entre o nitrogênio total obtido por HR-CS FAAS, e o nitrogênio advindo de nitrato ou ureia obtidos por Raman.

Em relação ao fósforo, as espécies, se fosfito ou fosfato, são identificadas na primeira etapa do sistema em fluxo pelo espectrômetro Raman, onde também podem ser quantificadas individualmente. O teor de P total é obtido por HR-CS FAAS pela linha $247,620 \text{ nm}$ referente ao PO.

O potássio não é identificado por Espectroscopia Raman, porém é facilmente detectado e quantificado por HR-CS FAAS pela linha $344,738 \text{ nm}$.

5.5.3. Análise qualitativa e quantitativa

Para avaliar o desempenho do sistema, foram produzidas soluções para simular algumas formulações NPK. As soluções finais injetadas no sistema foram diluídas 15 vezes e acidificadas com HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ a $\text{pH} = 1$. Após a coleta dos espectros Raman, foram feitas as leituras por HR-CS FAAS. Os resultados das determinações de N, P e K por calibração externa estão exibidos na Tabela 20.

Tabela 20. Resultados da determinação de P, N e K em amostras simuladas por HR-CS FAAS empregando o sistema de fluxos proposto

Amostra	Fonte	Teor obtido % (m m ⁻¹)	Teor esperado % (m m ⁻¹)	Erro %
Fósforo				
I	HPO ₃ ²⁻ e PO ₄ ³⁻	5,8 ± 0,03%	5,9%	2
II	PO ₄ ³⁻	5,3 ± 0,02%	5,9%	10
III	HPO ₃ ²⁻	5,5 ± 0,05%	5,9%	6
Nitrogênio				
I	CH ₄ N ₂ O, NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	7,3 ± 0,1 %	7%	5
II	CH ₄ N ₂ O, NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	6,7 ± 0,12 %	7%	4
III	CH ₄ N ₂ O	6,4 ± 0,1 %	7%	9
Potássio				
I	K ⁺	5,7 ± 0,1	6,2%	8
II	K ⁺	5,7 ± 0,1%	6,2%	8
III	K ⁺	5,8 ± 0,2%	6,2%	6

Análise dos resultados apresentados na Tabela 20 revela que as recuperações na faixa de 90 a 105% são satisfatórias, conferindo ao método proposto potencial para análise de fertilizantes NPK, com ênfase na determinação qualitativa (N e P) e quantitativa (N, P e K).

O método foi aplicado para a determinação de N, P e K em amostras comerciais (1 a 10) de NPK. Além disso, o método enfatizou a determinação e identificação de N (amônio, ureia e/ou nitrato). Para isso, materiais de referência e amostras comerciais de fertilizantes foram analisadas.

Os materiais de referência SRM 695 (Elementos Traço em Fertilizante Multi-Nutriente), SRM 2141 (Ureia), e BCR 178 (Fertilizante de nitrato de amônio e cálcio) foram analisados e os resultados encontrados estavam de acordo com os valores certificados de N (amônio, nitrato, ureia e total), P (fosfato, fosfito e total) e K total ao nível de 95% de confiança.

As concentrações determinadas estavam dentro dos intervalos esperados considerando os valores especificados pelos fabricantes nos rótulos dos produtos. As amostras foram analisadas pelo método oficial para a análise dos fertilizantes que empregam os Kjeldahl, espectrofotometria e espectrometria de emissão atômica em chama e os resultados foram concordantes ao nível de confiança de 95 % (teste t pareado) com os obtidos pelo método proposto combinando Espectroscopia Raman – HR-CS FAAS (Tabela 21).

Ademais, considerando que o teor de N-NH₄⁺ não é medido diretamente, a precisão da determinação de N foi avaliada por teste de adição e recuperação a dois níveis. Os resultados obtidos são descritos na Tabela 22.

As recuperações foram obtidas na faixa de 89 – 116%, indicando que a análise de fertilizantes em sistema em fluxo é uma proposta robusta, simples, rápida e com grande

potencial para aplicação em análises de rotina. As amostras foram submetidas a análises comparativas por métodos oficiais, sendo eles: Kjeldahl (para N), espectrofotometria (para P) e fotometria de chama (para K). A Tabela 23 mostra a comparação dos resultados obtidos, assim como seus respectivos valores de t calculados quando submetidos ao teste estatístico t de Student. A análise da tabela mostra que os resultados apresentaram concordância entre si, estatisticamente comparáveis ao nível de 95% de confiança.

Os limites de detecção e de quantificação foram calculados de acordo com as recomendações da IUPAC (Tabela 24) se mostraram adequados para o método proposto.

Tabela 21. Determinação de N, P e K por análise em fluxo de amostras de fertilizantes em acoplamento RS – HR-CS FMAS. Teores totais expressos em % (m m^{-1}) e respectivas recuperações (%) entre parênteses.

Amostra	N				P			K
	N – total	N – NO_3^{-3}	N – ureia	N – NH_4^+	P – total	P – PO_4^{3-}	P – HPO_3^{2-}	K – total
1	9,7 ± 1,8 (97)	0	9,5 ± 0,2	0	8,9 ± 0,6 (89)	9,2 ± 0,1	0	9,4 ± 1,1 (94)
2	3,7 ± 0,4 (93)	0,5 ± 0,1	-	2,9 ± 0,4**	14,6 ± 1,6 (104)	12,8 ± 0,2	0	8,4 ± 0,1 (105)
3	0	0	0	0	31,5 ± 2,0 (105)	28,5 ± 0,7	0	18,3 ± 0,7 (91)
4	0	0	0	0	40,7 ± 3,5 (102)	38,5 ± 0,5	0	20,6 ± 0,6 (97)
5	5,3 ± 1,1 (106)	0	5,0 ± 0,1	0	24,9 ± 0,9 (100)	5,6 ± 0,6	20,7 ± 0,2	14,7 ± 1,0 (98)
6	2,3 ± 0,7 (115)	0	2,0 ± 0,6	0	22,5 ± 1,5 (102)	5,6 ± 0,4	16,3 ± 0,9	14,0 ± 1,0 (100)
7	7,9 ± 0,2 (113)	7,9 ± 0,1	0	0	0	0	0	0
8	7,0 ± 0,3 (100)	7,0 ± 0,1	0	0	0	0	0	0
9	7,4 ± 0,1 (107)	7,5 ± 0,1	0	0	0	0	0	0
10	7,1 ± 0,1 (99)	6,9 ± 0,2	0	0	0	0	0	0
NIST 695*	13,5 ± 0,4 (97)	1,5 ± 0,2	2,4 ± 0,3	9,6 ± 0,5**	7,4 ± 0,3 (103)	7,1 ± 0,2	0	11,3 ± 0,3 (97)
BCR 178*	26,1 ± 0,9 (99)	12,8 ± 0,5 (98)	0	13,0 ± 1,0** (100)	0	0	0	0
NIST 2141*	48,1 ± 2,0 (103)	0	46,1 ± 1,2 (99)	0	0	0	0	0

*NIST 695: 13,9 ± 0,4 % N (m m^{-1}), 11,65 ± 0,13 % K (m m^{-1}), 7,2 ± 0,1 % P (m m^{-1}); BCR 178: 130,44 ± 0,32 mg g^{-1} N- NH_4^+ , 130,15 ± 0,57 mg g^{-1} N- NO_3^- , 260,19 ± 0,54 mg g^{-1} N; NIST 2141: 46,63 ± 0,02 % N (m m^{-1}).

** Resultados (média ± incerteza propagada) obtida pela subtração de N total (HR-CS FMAS) e N-ureia e/ou N- NO_3^- (Raman)

Tabela 22. Recuperações de N (%) em amostras nitrogenadas

Amostra	Adição de N como	Recuperação, %	
		0,2 % (m v^{-1})	0,5 % (m v^{-1})
Fertilizante 1	$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$	113	109
Fertilizante 2	NH_4^+	93	101
Fertilizante 7	NO_3^-	99	100

Tabela 23. Resultados referente à validação de FA pelos métodos comparativos Kjeldahl, Espectrofotometria e Fotometria de Chama e seus valores de t calculado. $t_{crit} = 2,92$, considerando o nível de 95% de confiança e $gl = 4$.

Amostra	N			P			K		
	EC N total (%, $m\ m^{-1}$)	Kjeldahl N total (%, $m\ m^{-1}$)	t_{calc}	EC P total (%, $m\ m^{-1}$)	Espectrofotometria P total (%, $m\ m^{-1}$)	t_{calc}	EC K total (%, $m\ m^{-1}$)	Fotometria de chama, (%, $m\ m^{-1}$)	t_{calc}
1	9,7 ± 1,8	10,4±0,1	1,01	8,9 ± 0,6	8,0±1,2	1,45	9,4 ± 1,1	8,9 ± 0,1	0,83
2	3,7 ± 0,4	3,7±0,1	1,08	12,8 ± 0,2	14,6±1,6	2,65	8,4 ± 0,1	8,3 ± 0,1	0,18
3	-	-	-	28,5 ± 0,7	31,5±1,1	1,66	18,3 ± 0,7	18,2 ± 1,0	0,11
4	-	-	-	38,5 ± 0,5	40,8±1,6	1,22	20,6 ± 0,6	21,3 ± 0,4	1,56
5	5,3 ± 1,1	5,1±01	0,20	23,8 ± 0,2	24,9±3,0	1,01	14,7 ± 1,0	15,3 ± 0,2	1,00
6	2,3 ± 0,7	2,0±0,1	0,61	22,7 ± 2,0	22,5±1,5	0,27	14,0 ± 1,0	14,8 ± 0,9	0,83
7	7,9 ± 0,2	7,6±0,2	1,93	-	-	-	-	-	-
8	7,0 ± 0,3	7,0±0,5	1,01	-	-	-	-	-	-
9	7,4 ± 0,1	6,5±0,6	2,49	-	-	-	-	-	-
10	7,1 ± 0,1	6,4±0,4	1,80	-	-	-	-	-	-

Tabela 24. Limite de Detecção e Limite de Quantificação (mg/g) das técnicas Raman e HR-CS FAAS para Fosfato, Fosfito, Nitrato e Ureia (Espectroscopia Raman) e NO, PO, K (HR-CS FAAS) calculados de acordo com as recomendações da IUPAC.

	Espectroscopia Raman				HR-CS FAAS		
	PO ₄ ³⁻	HPO ₃ ²⁻	CH ₄ N ₂ O	NO ₃ ⁻	NO	PO	K
LOD	0,02	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,01
LOQ	0,03	0,03	0,03	0,02	0,05	0,03	0,02

6. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho permitem concluir que a Espectroscopia Raman apresenta potencial para especiar fosfato, fosfito, nitrato e ureia em solução, e determinar quantitativamente essas espécies em fertilizantes.

No caso da identificação das fontes de N por Espectroscopia Raman, a principal dificuldade encontrada residiu na limitação do espectrômetro utilizado em não medir o íon amônio. Contudo, a combinação da Espectroscopia Raman e Espectrometria de Absorção Atômica (HR-CS FAAS), juntamente com os métodos clássicos de identificação do íon amônio, forneceram as informações qualitativas e quantitativas necessárias sobre essa espécie.

As concentrações dos analitos presentes nas amostras comerciais de fertilizantes variam, de forma geral, entre 2 a 23% (m m^{-1}) em N e 5 a 40% (m m^{-1}) em P. Então, em relação dos LOD e LOQ, devido aos baixos valores calculados, é possível a determinação e quantificação das espécies sem prejuízo, dentro das faixas trabalhadas.

O acoplamento Raman – HR-CS FAAS em um sistema em fluxo para a análise dos fertilizantes NPK permitiu o desenvolvimento de um novo método analítico capaz de identificar e quantificar as diferentes espécies de nitrogênio e fósforo, e quantificar o teor total de N, P e K. O método se mostrou robusto e apresentou resultados com recuperações variando na faixa de 87 a 121%, e comparáveis aos métodos oficiais ao nível de 95% de confiança.

Pode-se inferir que os resultados obtidos para a determinação de N, P e K por Espectroscopia Raman e por Espectrometria de Absorção Atômica permitiram a determinação dos elementos dentro dos limites de tolerância em relação às garantias dos produtos, como rege a Instrução Normativa nº05 de 23 de fevereiro de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

A calibração com padrão único foi estudada para a análise de fertilizantes por Espectroscopia Raman, tendo como parâmetro operacional variado a porcentagem da potência máxima do laser. Os métodos de calibração estudados foram *Single Standard Multi-Laser Power Calibration* e *Single Standard Two-Point Calibration* para análise das espécies de N (amônio, nitrato e ureia) e P (fosfato e fosfito). Ambos os métodos foram comparados à calibração externa e os resultados obtidos apresentaram precisão e exatidão adequadas, indicando potencial para análise de rotina, além de requererem uma quantidade significativamente menor de reagentes, e conseqüentemente minimizando a geração de resíduos.

REFERÊNCIAS

- AGRO, T. **AGRONEGÓCIO RESPONDEU POR 27,4% DO PIB BRASILEIRO EM 2021**. Disponível em: <https://techagrobrasil.com.br/agronegocio-respondeu-por-274-do-pib-brasileiro-em-2021/>. Acesso em: 20 dez. 2022.
- ALMEIDA, G. A. V. et al. Métodos Kjeldahl, Elementar e o Potencial da Espectroscopia do Infravermelho Próximo para Determinação de Nitrogênio em Solos da Bacia do Acre. **Biota Amazônia**, v. 6, n. 4, p. 38–43, 29 dez. 2016.
- ANDA. **Principais indicadores do setor de fertilizantes Estatísticas_ Indicadores**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://anda.org.br/index.php?mpg=03.00.00>>. Acesso em: 20 dez. 2022.
- BARANIK, A. et al. Determination and speciation of ultratrace arsenic and chromium species using aluminium oxide supported on graphene oxide. **Talanta**, v. 185, n. January, p. 264–274, 2018.
- BARTOLOMEU SANTANA, F.; SENA DOS SANTOS, P. J. Espectroscopia e modelos atômicos: uma proposta para a discussão de conceitos de Física Moderna no Ensino Médio. **Caderno Brasileiro de Ensino de Física**, v. 34, n. 2, p. 555, 9 ago. 2017
- BARTOS, J. M. et al. Determination of phosphorus and potassium in commercial inorganic fertilizers by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry: Single-laboratory validation. **Journal of AOAC International**, v. 97, n. 3, p. 687–699, 2014.
- BECHLIN, M. A. et al. A simple and fast method for assessment of the nitrogen-phosphorus-potassium rating of fertilizers using high-resolution continuum source atomic and molecular absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 101, p. 240–244, 2014.
- BECHLIN, M. A.; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A. Evaluation of lines of boron, phosphorus and sulfur by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry for plant analysis. **Microchemical Journal**, v. 109, p. 134–138, 2013.
- BECKER-ROSS, H. et al. Influence of the spectral bandwidth of the spectrometer on the sensitivity using continuum source AAS. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 355, n. 3–4, p. 300–303, 1996.

BERNARDES, T. **Fertilizante NPK: Tudo que é necessário saber antes de comprá-lo.**

BICKLEY, R. I. et al. Vibrational spectroscopic study of the hypophosphite and phosphite anions, $\text{H}_2\text{PO}_2^{-2}$ and HPO_2^{-3} , and of their deuteriated analogues in the solid state and in aqueous solution. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy**, v. 50, n. 7, p. 1277–1285, 1994.

BRANDAO, G. C. et al. Development of a simple method for the determination of nitrite and nitrate in groundwater by high-resolution continuum source electrothermal molecular absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 806, p. 101–106, 2014.

BRANDAO, G. C.; LIMA, D. C.; FERREIRA, S. L. C. The chemical generation of NO for the determination of nitrite by high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry. **Talanta**, v. 98, n. 2, p. 231–235, 2012.

BRASIL, M. DO M. A. **Plano Nacional de Adaptação à Mudança do Clima.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/images/arquivo/80182/PNA_Volume I.pdf>. Acesso em: 24 dez. 2022.

BRASIL, S. E. DE A. E. **Plano Nacional de Fertilizantes Secretaria Especial de Assuntos Estratégicos.** [s.l: s.n.]. Disponível em: https://www.gov.br/planalto/pt-br/assuntos/assuntos-estrategicos/documentos/estudos-estrategicos/sae_publicacao_fertilizantes_v10.pdf. Acesso em: 30 mar. 2023,

BÜCKER, S.; ACKER, J. Spectrometric analysis of process etching solutions of the photovoltaic industry - Determination of HNO_3 , HF, and H_2SiF_6 using high-resolution continuum source absorption spectrometry of diatomic molecules and atoms. **Talanta**, v. 94, p. 335–341, 2012.

CBD. **Panorama da Biodiversidade Global 3.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://www.cbd.int/doc/publications/gbo/gbo3-final-pt.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2023.

CHRISTIAN, G. D.; DASGUPTA, P. K.; SCHUG, K. A. **Analytical Chemistry.** 7. ed. United States of America: Wile, 2014.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities¹Adapted from the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) document “Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods including Detection . **Analytica Chimica Acta**, v. 391, n. 2, p. 105–126, maio 1999.

DAMETTO, P. R.; FRANZINI, V. P.; NETO, J. A. G. Phosphite determination in fertilizers after online sequential sample preparation in a flow injection system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 15, p. 5980–5983, 2007.

DONATI, G. L.; AMAIS, R. S. Fundamentals and new approaches to calibration in atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 34, n. 12, p. 2353–2369, 1 dez. 2019.

FARIA, D. L. DE. **Entenda o que é espectroscopia Raman** São Paulo Química Viva - CRQ-IV, , 2011.

FERRARO, J. R.; NAKAMOTO, K.; BROWN, C. W. **Introductory Raman Spectroscopy: Second Edition**. 5. ed. [s.l.] Elsevier, 2003.

FERREIRA, R. B. et al. Evaluation of Lines of Phosphorus and Potassium by High-Resolution Continuum Source Flame Atomic Absorption Spectrometry for Liquid Fertilizer Analysis. **Atomic Spectroscopy**, v. 32, n. 2, p. 56–61, 2011.

FILGUEIRAS, C. A. L. Espectroscopia e a Química: Da Descoberta de Novos Elementos ao Limiar da Teoria Quântica. **Química Nova na Escola**, v. 3, p. 22–25, 1996.

FRANZINI, V. P. et al. Direct determination of phosphite in fertilizers by flow-injection amperometry. **Electroanalysis**, v. 19, n. 17, p. 1794–1798, 2007.

HARNLY, J. M. Graphite furnace atomic absorption spectrometry using a linear photodiode array and a continuum source. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 8, n. 2, p. 317, 1993a.

HARNLY, J. M. The effect of spectral bandpass on signal-to-noise ratios for continuum source atomic absorption spectrometry with a linear photodiode array detector. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 48, n. 6–7, p. 909–924, 1993b.

HARNLY, J. M. et al. Use of a segmented array charge coupled device detector for continuum source atomic absorption spectrometry with graphite furnace atomization. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 12, n. 6, p. 617–627, 1997.

HARNLY, J. M.; SMITH, C. M. M.; RADZIUK, B. Extended calibration ranges for continuum source atomic absorption spectrometry with array detection. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 51, n. 9–10, p. 1055–1079, 1996.

HARRIS, D. C. **Analise Química Quantitativa**. 8. ed. [s.l.] LTC, 2012.

HEITMANN, U. et al. Feasibility of peak volume, side pixel and multiple peak registration in high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 11, p. 1222–1230, 2007.

HUANG, M. D. et al. Determination of phosphorus by molecular absorption of phosphorus monoxide using a high-resolution continuum source absorption spectrometer and an air-acetylene flame. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 21, n. 3, p. 338–345, 2006.

HUANG, M. D. et al. High-resolution continuum source molecular absorption spectrometry of nitrogen monoxide and its application for the determination of nitrate. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, n. 2, p. 163–168, 2010.

JAYARAMAN, A.; RAMDAS, A. K. Chandrasekhara Venkata Raman. 1988.

J. D. Ingle, Jr., e S. R. Crouch, **Spectrochemical Analysis**, p. 499-503. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988

JONES, Willis B.; DONATI, George L.; CALLOWAY, Clifton P.; JONES, Bradley T.. Standard Dilution Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 4, p. 2321-2327, 30 jan. 2015. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ac504152x>.

KEITH, L. H.; MUELLER, W.; SMITH, D. L. **EPA's sampling and analysis methods**. [s.l.: s.n.].

KELIHER, P. N.; WOHLERS, C. C. High Resolution Atomic Absorption Spectrometry Using an Echelle Grating Monochromator. **Analytical Chemistry**, v. 46, n. 6, p. 682–687, 1974.

LU, G.; FORBES, T. Z.; HAES, A. J. Evaluating Best Practices in Raman Spectral Analysis for Uranium Speciation and Relative Abundance in Aqueous Solutions. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 1, p. 773–780, 2016.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. [s.l.] Institute of Plant Nutrition University of Hohenheim: Germany, 1995.

MAZZEI, R. A.; SCUPPA, S. Ion Chromatographic determination of phosphorus soluble in different extracting media in fertilizers. **Journal of AOAC International**, v. 89, n. 5, p. 1243–1248, 2006.

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO). **Manual De Métodos Analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos**. Brasília: [s.n.].

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO). Instrução Normativa nº05 de 23 de fevereiro de 2007.

MOULTON, G. P.; O’HAVER, T. C.; HARNLY, J. M. Continuum source atomic absorption spectrometry with a pulsed source and a photodiode array detector. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 4, n. 7, p. 673–674, 1989.

MOULTON, G. P.; O’HAVER, T. C.; HARNLY, J. M. Signal to noise ratios for continuum source atomic absorption spectrometry using a linear photodiode array to monitor sub-nanometre wavelength intervals. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 5, n. 2, p. 145, 1990.

MURRIA, P. et al. Speciation of CuCl and CuCl₂ Thiol-Amine Solutions and Characterization of Resulting Films: Implications for Semiconductor Device Fabrication. **Inorganic Chemistry**, v. 56, n. 23, p. 14396–14407, 2017.

NASTARI, P. M. A crise na Ucrânia e a dependência da importação de fertilizantes. **Mercado & Negócios**, n. 65, p. 15–17, 2022.

O’HAVER, C. T.; MESSMAN, J. D. Continuum source atomic absorption spectrometry. **Progress in Analytical Spectroscopy**, v. 9, n. 4, p. 483–503, 1986.

OLIVEIRA, E. M. et al. Simultaneous determination of phosphite and phosphate in fertilizers by Raman spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 246, p. 119025, 5 fev. 2021.

PIMENTEL, MARIA FERNANDA; NETO, B. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. **Química Nova**, v. 3, n. 19, p. 268–277, 1993.

POUVREAU, M. et al. Ab Initio Molecular Dynamics Reveal Spectroscopic Siblings and Ion Pairing as New Challenges for Elucidating Prenucleation Aluminum Speciation. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 122, n. 29, p. 7394–7402, 2018.

RESANO, M.; BRICEÑO, J.; BELARRA, M. A. Direct determination of phosphorus in biological samples using a solid sampling-high resolution-continuum source electrothermal spectrometer: Comparison of atomic and molecular absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 24, n. 10, p. 1343–1354, 2009.

RUDOLPH, W. W.; BROOKER, M. H.; TREMAINE, P. R. Raman spectroscopy of aqueous ZnSO₄ solutions under hydrothermal conditions: Solubility, hydrolysis, and sulfate ion pairing. **Journal of Solution Chemistry**, v. 28, n. 5, p. 621–630, 1999.

SCHMIDT, C. Formation of hydrothermal tin deposits: Raman spectroscopic evidence for an important role of aqueous Sn(IV) species. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 220, p. 499–511, 2018.

SMITH, C. M. M.; HARNLY, J. M. Sensitivities and detection limits for graphite furnace atomic absorption spectrometry using a continuum source and linear photodiode array detection. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 49, n. 4, p. 387–398, 1994.

THALER, J. **Espectroscopia Raman amplificada pro superfície com nanopartículas de Ni, Co e Bi para a detecção de biomoléculas e microrganismos** *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952. Curitiba, 2020.

TSUBOI, M. Vibrational Spectra of Phosphite and Hypophosphite Anions, and the Characteristic Frequencies of PO₃[—] and PO₂[—] Groups. **Journal of the American Chemical Society**, v. 79, n. 6, p. 1351–1354, 1957.

VIEIRA, A. L. et al. A user-friendly excel spreadsheet for dealing with spectroscopic and chromatographic data. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 194, n. September, 2019.

VIEIRA, A. L. et al. Spark discharge-labs: Evaluation of one-point and multi-voltage calibration for p and al determination. **Atomic Spectroscopy**, v. 42, n. 1, p. 18–24, 2021.

VIRGILIO, A. et al. Calculating limits of detection and defining working ranges for multi-signal calibration methods. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 35, n. 8, p. 1614–1620, 2020.

WELZ, B. et al. High-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry - What can we expect? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 220–229, 2003.

WELZ, B. et al. **High-Resolution Continuum Source AAS: The Better Way to Do Atomic Absorption Spectrometry**. Hoboken: Wiley, 2005.

WELZ, B.; SPERLING, M. VON. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3. ed. [s.l.] Wiley, 1999.

YANG, M. et al. Raman spectra of thiolated arsenicals with biological importance. **Talanta**, v. 179, n. November 2017, p. 520–530, 2018.

ZANDER, A. T.; O’HAVER, T. C.; KELIHER, P. N. Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry with High Resolution and Wavelength Modulation. **Analytical Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 1166–1175, 1976.