

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE FRAÇÕES DE FÓSFORO EM FERTILIZANTES

Vitória Marques Mariano^{1*}, Jorge C. Masini¹

1 – Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo (USP), Av. Prof. Lineu Prestes 748, 05508-000, São Paulo, SP
vitoria.marques998@gmail.com

Resumo: A demanda por maior produtividade nas análises de amostras no dia a dia em laboratórios de controle de qualidade de produtores de fertilizantes agrícolas torna indispensável a automatização dos métodos oficiais, ou até mesmo desenvolvimento e validação de métodos alternativos que tragam um aumento na capacidade atual. Os macronutrientes nitrogênio, fósforo e potássio são os principais analitos que requerem métodos que permitem determinar suas espécies químicas de acordo com a legislação vigente com maior velocidade analítica. Este trabalho apresenta os resultados da automatização por Análise por Injeção em Fluxo com detecção por espectrofotometria de absorção molecular dos métodos oficiais para determinação de P e compará-los com as técnicas instrumentais mais avançadas como a Espectrometria de Emissão Óptica de Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES) para análise elementar de fósforo.

Palavras-chave: *Análise por injeção em fluxo, Especificação de fósforo, Espectroscopia UV-VIS, MIP OES, Análise de Fertilizantes.*

Development and validation of methods for quantification of phosphorus fractions in fertilizers

Abstract: The demand for increased productivity in sample analysis in quality control laboratories of agricultural fertilizer producers makes it essential to automate official methods, or even develop and validate alternative methods that bring an increase in current capacity. The macronutrients nitrogen, phosphorus and potassium are the main analytes that require methods that allow determining their chemical species in accordance with current legislation with greater analytical speed. This work presents results of automation studies by Flow Injection Analysis with detection by molecular absorption spectrophotometry for the determination of P by official methods, and compare them with more advanced instrumental techniques such as Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP OES) for elemental phosphorus analysis.

Keywords: *Flow injection analysis, Phosphorus speciation, UV-VIS Spectroscopy, MIP OES, Fertilizer Analysis.*

Introdução

Segundo a Secretaria Especial de Assuntos Estratégicos (2021), a próspera necessidade de ampliação das áreas de plantio no mundo traz um aumento no consumo de fertilizantes. Em 2020 a demanda foi de 40,6 milhões de toneladas e estima-se que até o ano de 2050 esse valor subirá para 77,7 milhões de toneladas, o que traz consequentemente um aumento das produções de insumos agrícolas para suprir a demanda em escala global. Neste cenário, surge a necessidade de um rigoroso controle na produção e comercialização desses produtos, o que é realizado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).⁴

As empresas produtoras que são credenciadas por este órgão, geralmente dispõem de laboratórios de controle de qualidade, dos quais utilizam para realizar as análises químicas. A consequência para estes com a crescente demanda de mercado é o aumento no número de amostras recebidas no dia a dia. Uma pesquisa em laboratórios de diferentes mercados realizada pela Agilent Technologies em 2019, com o objetivo de entender os pontos problemáticos e as preocupações mais urgentes, trouxe como resposta que 45% dos entrevistados citaram uma pressão para aumentar o número de amostras além da capacidade atual deles (em torno de 500 a 1000 amostras por semana). Perante o exposto é notória as preocupações para as gestões, quanto ao aumento capacidade de processamento das determinações químicas de seus insumos e produtos.¹

A análise por injeção em fluxo (FIA) é amplamente utilizada em rotinas laboratoriais para a análise de fósforo em fertilizantes devido à sua capacidade de automatizar o processo e analisar amostras em alta taxa. Fertilizantes, especialmente aqueles em forma líquida ou dissolvida, podem ser facilmente analisados utilizando sistemas de FIA, nos quais a amostra é misturada com reagentes específicos (geralmente molibdato) para formar um complexo colorido.⁸

A principal vantagem da FIA é sua eficiência e rapidez. Fertilizantes frequentemente requerem análises em larga escala, e FIA pode ser implementada em laboratórios com maior demanda de amostras, oferecendo uma análise contínua e com baixo custo operacional. A precisão da técnica pode ser afetada pela presença de interferentes ou pela necessidade de ajustes nas condições de reação. No entanto, a FIA continua sendo uma opção viável para análises de fósforo em fertilizantes quando o controle de qualidade precisa ser feito de forma rotineira e em grande quantidade.⁹

MIP OES é uma técnica moderna que apresenta potencial significativo para melhorar as capacidades analíticas dos laboratórios de controle de qualidade na indústria de fertilizantes. A MIP-OES oferece diversas vantagens que se alinham bem com a necessidade da indústria por análises elementares precisas, eficientes e econômicas, tais como a capacidade de análise multi-elementar, alta sensibilidade e precisão, e preparação mínima de amostras em laboratório. Uma característica notável é o baixo custo operacional em comparação com a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado tradicional (ICP-OES), uma vez que a MIP OES opera com plasma de nitrogênio, tipicamente gerado a partir do ar ambiente. Isso reduz significativamente os custos operacionais relacionados ao suprimento de gás argônio, tornando-a uma opção econômica para análises de rotina. O uso de plasma de nitrogênio e o menor consumo de energia tornam a MIP-OES uma opção analítica mais sustentável e ecologicamente correta, alinhando-se com os princípios da química verde cada vez mais adotados pela indústria de fertilizantes.³

Os laboratórios se referenciam no Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), que estabelece o modo de quantificação de macronutrientes e micronutrientes de acordo com forma específica em que este elemento se encontra, seja por exemplo em seu estado mais oxidado ou menos oxidado, ou na forma de complexos, pois sua especiação impacta diretamente no seu papel como fertilizante que está relacionado com sua biodisponibilidade. Os métodos disponíveis neste manual podem ser classificados do seguinte modo:⁵

- a) Métodos gravimétricos: analito a ser determinado é convertido a um precipitado insolúvel que é isolado e pesado;
- b) Métodos titulométricos: analito é determinado com um reagente adequado, adicionado na forma de uma solução padronizada, e determina-se o volume de solução necessário para completar a reação;
- c) Métodos espectrométricos: o analito é quantificado através da medida da quantidade de energia radiante em um determinado comprimento de onda que é absorvida ou emitida pelo analito. Os equipamentos oficiais são o fotômetro de chama, espectrofotômetro UV-Visível e espectrômetro de absorção atômica. Como alternativas surgem a Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) e a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES).

O fósforo é o nutriente que possui o maior número de espécies químicas diferentes, mesmo que seja proveniente de uma mesma fonte, que traz a cada um deles um modo de aplicação diferente devido a sua biodisponibilidade. O manual do MAPA traz diferentes “extratores químicos” que

classifica esse elemento quanto a sua solubilidade. Os extratores químicos são água (solubiliza ácido fosfórico, fosfatos monocálcicos ou de amônio, e os polifosfatos de amônio), citrato neutro de amônio (solubiliza fosfatos dicálcicos em superfosfatos e as demais formas de fósforo exceto o tricálcico (apatitas), ácido cítrico 2% (solubiliza fósforo em escórias básicas e todas as formas de fósforo em fertilizantes, exceto fosfatos de alumínio e ferro das apatitas), ácido fórmico 2% (solubiliza com mais eficiência certos tipos de apatitas), e ácidos nítrico e clorídrico (solubiliza todas as fontes de fósforo, inclusive os fosfitos). Entre os extratores amplamente utilizados, o citrato neutro de amônio (CNA) se destaca por simular a disponibilidade de fósforo para as plantas, sendo uma etapa crítica para a avaliação da eficiência agrônômica dos fertilizantes.² A determinação final especificada pode ser feita exclusivamente por dois métodos:⁵

- a) Método gravimétrico “Quimiociac”: Precipitação do íon ortofosfato como fosfomolibdato de quinolina;
- b) Método espectrofotométrico do ácido molibdovanadofosfórico: procede-se a formação de um complexo colorido entre o fosfato e os reagentes vanadato e molibdato de amônio, de cor amarela, cuja absorvância é medida a 400-420 nm.

O método espectrofotométrico é mais rápido do que o método gravimétrico. Para insumos agrícolas o método espectrofotométrico é o mais praticado, no entanto quando se trata de fertilizantes com diferentes fontes de nutrientes, principalmente aqueles que geram cor ou possuem aditivos corantes, o método espectrofotométrico não é o utilizado devido às interferências e, com isso, o método gravimétrico acaba sendo o mais utilizado.

A determinação precisa e confiável de fósforo é essencial no controle de qualidade de fertilizantes, considerando seu papel vital como macronutriente na agricultura. O avanço tecnológico tem possibilitado o desenvolvimento e a aplicação de novas metodologias analíticas que oferecem maior sensibilidade, precisão e robustez, mesmo em amostras que exigem condições específicas de extração. Portanto o desenvolvimento e validação de métodos analíticos que permitam uma maior velocidade analítica mantendo a qualidade e o fracionamento de acordo com sua biodisponibilidade é de suma importância para as indústrias de fertilizantes fosfatados. Desta forma, este trabalho tem como objetivo discutir os resultados do teor de fósforo obtidos através destas três metodologias, considerando sua eficácia para análises de fertilizantes, com ênfase em suas vantagens, limitações e adequação aos critérios de validação. A análise comparativa permitirá identificar a abordagem mais adequada para diferentes cenários analíticos, contribuindo para o aprimoramento dos métodos de controle de qualidade na indústria de fertilizantes.¹⁴

Experimental

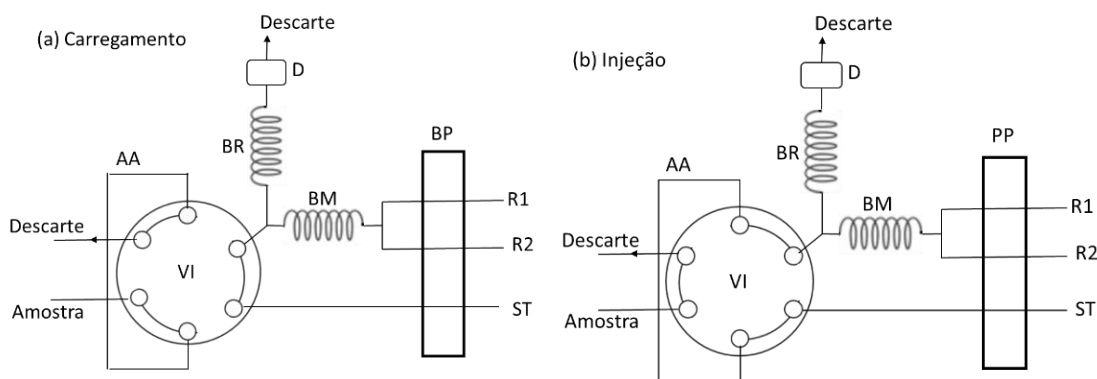
Instrumentação

Medidas espectrofotométricas: espectrômetro USB 4000, da Ocean Optics (Dunedin, FL, EUA), acoplado a uma cela de fluxo SMA-Z-20mm em Ultem (FIALab Instruments, Seattle, EUA) de 2 cm de caminho óptico. A fonte de radiação foi uma lâmpada halogênio/tungstênio LS-1-LL, da Ocean Optics. A transmissão da radiação da fonte até a cela de fluxo e depois até o espectrômetro foi feita com dois cabos de fibra óptica com diâmetro de 600 µm e 1 m de comprimento, da Ocean Optics.

O sistema de análise por injeção em fluxo foi constituído por uma bomba peristáltica modelo 403 U/C8 da Watson Marlow (Marlow, Reino Unido), uma válvula rotatória de baixa pressão de 6-portas e duas vias da ICI Valco Instruments (Houston, TX, USA), bobinas helicoidais de mistura e reação, feitas com tubos de etileno propileno fluorado (FEP), pontos de confluência e o detector

espectrofotométrico. Controle de sincronização da válvula, bomba peristáltica e aquisição de dados foi feito pelo Software FIALab 5.0 (FIALab Instruments, Seattle, WA, USA). A Figura 1 apresenta o sistemas de injeção em fluxo usado para a determinação de fósforo nas posições de Carregamento (a) e Injeção (b). BP = Bomba peristáltica; ST = solução transportadora (água deionizada, $2,88 \text{ mL min}^{-1}$); R1 = 10 mmol L^{-1} de molibdato de amônio em $0,20$ ou $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 ($0,92 \text{ mL min}^{-1}$); R2 = 5% (mv^{-1}) de ácido ascórbico (método do azul de molibdênio) ou $0,08\%$ (mv^{-1}) de metavanadato de amônio (método do amarelo de molibdênio) ($0,92 \text{ mL min}^{-1}$); BM = bobina de mistura (tubo PFE de 1 m , $0,5 \text{ mm}$ de diâmetro interno), BR = bobina de reação (tubo FEP de 1 m , $0,5 \text{ mm}$ de diâmetro interno), VI = Válvula de injeção bidirecional de seis portas; AA = Alça de Amostragem ($130 \mu\text{L}$), D = Detector UV-Vis ajustado para 700 nm (método do azul de molibdênio) ou 370 nm (método do vanadofosfomolibdato amarelo).

Figura 1. Sistema de análise em fluxo.



Para as determinações de fósforo por MIP OES foi utilizado o modelo MIP OES 4200 (Agilent Technologies, Austrália), com vista axial e detector CCD (*Charge Coupled Device*). Para formação e sustentação do plasma, foi utilizado gás nitrogênio produzido por Gerador de Nitrogênio 4107 (Agilent Technologies) escolhido o sistema de introdução de amostras por nebulização direta da solução, com uso de nebulizador OneNeb® e tocha de quartzo do modelo *Easy Fit*®. A configuração do sistema é dada na Tabela 1.

Tabela 1. Condições de operação nas análises por MIP OES

Parâmetros Instrumentais	Valor
Potência de radiofrequência	1 kW
Vazão do gás de plasma (N_2 , L min^{-1})	12
Vazão de gás auxiliar (N_2 , L min^{-1})	1,5
Rotação da bomba (rpm)	15
Vazão de gás de nebulização ($\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$)	170 (H_2O) e 145 (CNA)
Posição de observação (passos do motor)	-20 (H_2O) e 0 (CNA)
Comprimento de onda	213,618 nm
Nebulizador	OneNeb®
Câmara de nebulização	Double-step cyclonic chamber
Orientação da tocha	Axial

Preparo das soluções

Solução de citrato neutro de amônio: dissolver 185g de ácido cítrico 99,5% em 500 mL de água tipo 1, adicionar 172,5 mL de hidróxido de amônio 28-30%. Aguardar o resfriamento e em seguida ajustar o pH para 7,00 ($\pm 0,05$), assim como a densidade a $1,09 \text{ g.mL}^{-1}$ com ácido cítrico ou hidróxido de amônio.

Solução de citrato neutro de amônio 1+9: Pipetar 10 mL da solução de citrato neutro de amônio e avolumar com água tipo 1 em um balão volumétrico de 100 mL.

Solução estoque de fósforo 100 mg. L^{-1} : Em balança analítica (resolução $\pm 0,0001 \text{ g}$) pesar 0,440 gramas do padrão primário de dihidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4) previamente seco em estufa a 105°C por 2 horas, solubilizar e avolumar com água Ultrapura ou tipo 1 com resistividade de $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{m}$ em um balão volumétrico de 1 L.

Solução de ácido ascórbico 5%: Em balança analítica (resolução $\pm 0,0001 \text{ g}$) pesar 12,5 gramas do ácido L-ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) $>98\%$ P.A solubilizar e avolumar com água deionizada em um balão volumétrico de 250 mL.

Solução de ácido ascórbico 5%+ 1000 ppm de Sb: Em balança analítica (resolução $\pm 0,0001 \text{ g}$) pesar 12,5 gramas do ácido L-ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) $>98\%$ P.A e 67,5 mg de Tartarato de antimônio e potássio 99% solubilizar e avolumar com água deionizada em um balão volumétrico de 250 mL.

Soluções de molibdato de amônio: Em balança analítica (resolução $\pm 0,0001 \text{ g}$) pesar a massa de 5,84 g (10 mmol. L^{-1}) e 8,01 g ($13,7 \text{ mmol. L}^{-1}$) de molibdato de amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ P.A, adicionar 32 mL de ácido nítrico (HNO_3) 65% P.A solubilizar e avolumar com água deionizada em um balão volumétrico de 500 mL.

Solução de metavanadato de amônio 0,08%: Em balança analítica (resolução $\pm 0,0001 \text{ g}$) pesar 0,8 gramas metavanadato de amônio NH_4VO_3 P.A, adicionar 112 mL de ácido nítrico (HNO_3) 65% P.A solubilizar e avolumar com água deionizada em um balão volumétrico de 1 L.

Curva de calibração em H_2O : Foram preparadas as curvas de calibração de com concentrações de 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 20; 30; 40; 60 e 80 mg. L^{-1} .

Curva de calibração em Citrato neutro de amônio: Foram preparadas as curvas de calibração de com concentrações de 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10; 20; 30; 40; 60 e 80 mg. L^{-1} mantendo fixa a concentração de CNA em 0,3% em todos os pontos.

Extração

Fósforo solúvel em água: Pesar 1,0 ($\pm 0,1$) g de amostra em seguida adicionar 50 mL de água tipo 1 (deionizada, resistividade $> 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) e ferver por 10 minutos. Transferir o extrato para um balão de 250 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar através de papel filtro de porosidade média, seco.

Fósforo solúvel em citrato neutro de amônio + água: Pesar 0,5 (\pm 0,1) g de amostra e em seguida adicionar 25 mL de CNA, cobrir com vidro de relógio e deixar ferver por 10 minutos. Transferir para um balão de 250 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Resultados e Discussão

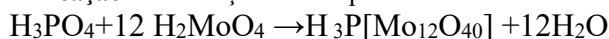
Três metodologias recentes têm ganhado destaque para a determinação de fósforo em fertilizantes: os métodos colorimétricos baseados no molibdato amarelo e no molibdato azul, além de MIP OES. Essas técnicas apresentam abordagens inovadoras e promissoras para determinação de fósforo em fertilizantes. No método do amarelo de molibdênio-vanadato, o íon ortofosfato (PO_4^{3-}) reage com íons molibdato (MoO_4^{2-}) e vanadato (VO_3^-) em meio ácido, formando um complexo fosfovanadomolibdato de cor amarela, cuja absorvância pode ser medida espectrofotometricamente na região de 400 a 450 nm. Essa reação é relativamente rápida e estável, permitindo uma análise eficiente e de alta reprodutibilidade. Em sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA), o tempo de residência pode ser otimizado com bobinas curtas e vazões elevadas, uma vez que não é necessária uma otimização extrema da sensibilidade para fertilizantes, que já possuem alta concentração de fósforo.¹³ reação pode ser representada de forma simplificada como:

Reação 1: Formação do amarelo de molibdênio-vanadato.

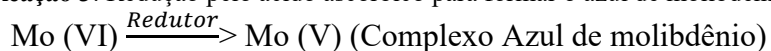


No método do azul de molibdênio, o fosfato forma com o molibdato um heteropoliácido no qual o molibdênio na presença de um redutor, no caso o ácido ascórbico, passa de um número de oxidação de 6 para 5 formando um complexo intensamente colorido cuja absorvância é medida a aproximadamente 700 nm, onde a primeira reação é rápida e a segunda é relativamente lenta, mas como em sistemas FIA o tempo de medida é constante, fica assegurada a redução sempre na mesma fração do heteropoliácido.¹¹ As reações podem ser descritas genericamente como:

Reação 2: Formação do complexo fosfomolibdato



Reação 3: Redução pelo ácido ascórbico para formar o azul de molibdênio



A sensibilidade dos métodos molibdato amarelo e azul é fortemente influenciada pela concentração de molibdênio e pelo pH das amostras. Essas duas variáveis afetam a formação e estabilidade dos complexos molibdato-fósforo e, portanto, a intensidade da cor formada, que é usada para a quantificação do fósforo. O método azul é mais sensível, especialmente para amostras com fósforo em concentrações baixas, devido à maior intensidade de cor do complexo azul. No entanto, tanto o molibdato amarelo quanto o azul exigem um controle rigoroso das condições de concentração de molibdênio e pH para garantir a formação adequada do complexo e evitar interferências. A concentração inadequada de molibdênio (insuficiente, dadas as altas concentrações de P e a relação estequiométrica 1: 12 de P para Mo) e a variação no pH podem prejudicar a formação do complexo, afetando diretamente a sensibilidade e a precisão dos métodos colorimétricos na quantificação de

fósforo. Assim, a escolha do método dependerá das características da amostra, especialmente da concentração de fósforo e da necessidade de sensibilidade analítica.¹²

A presença de citrato neutro de amônio (CNA), amplamente utilizado em análises de fertilizantes, pode interferir significativamente nos métodos colorimétricos para a determinação de fósforo, principalmente nos métodos molibdato amarelo e azul. O CNA pode alterar o pH da solução e formar complexos com íons metálicos, como o molibdênio, prejudicando a formação dos complexos molibdato-fósforo e diminuindo a sensibilidade e precisão dos métodos.

A técnica MIP OES é particularmente útil na análise de fertilizantes devido à sua alta sensibilidade e capacidade de analisar uma variedade de amostras complexas, como compostos sólidos ou dissoluções aquosas. Fertilizantes podem conter uma grande diversidade de elementos em sua composição, e a técnica permite a determinação simultânea de fósforo e outros nutrientes essenciais como potássio, cálcio, magnésio, além de micronutrientes. A técnica é especialmente adequada para fertilizantes compostos que podem apresentar concentrações variadas de fósforo, proporcionando resultados precisos e de alta confiabilidade.³

Embora o MIP OES seja uma técnica robusta e menos suscetível a interferências químicas do que os métodos colorimétricos, a presença de citrato neutro de amônio (CNA) em fertilizantes pode impactar a determinação de fósforo, principalmente por meio de efeitos indiretos na eficiência de atomização, na estabilidade do plasma e na matriz da amostra

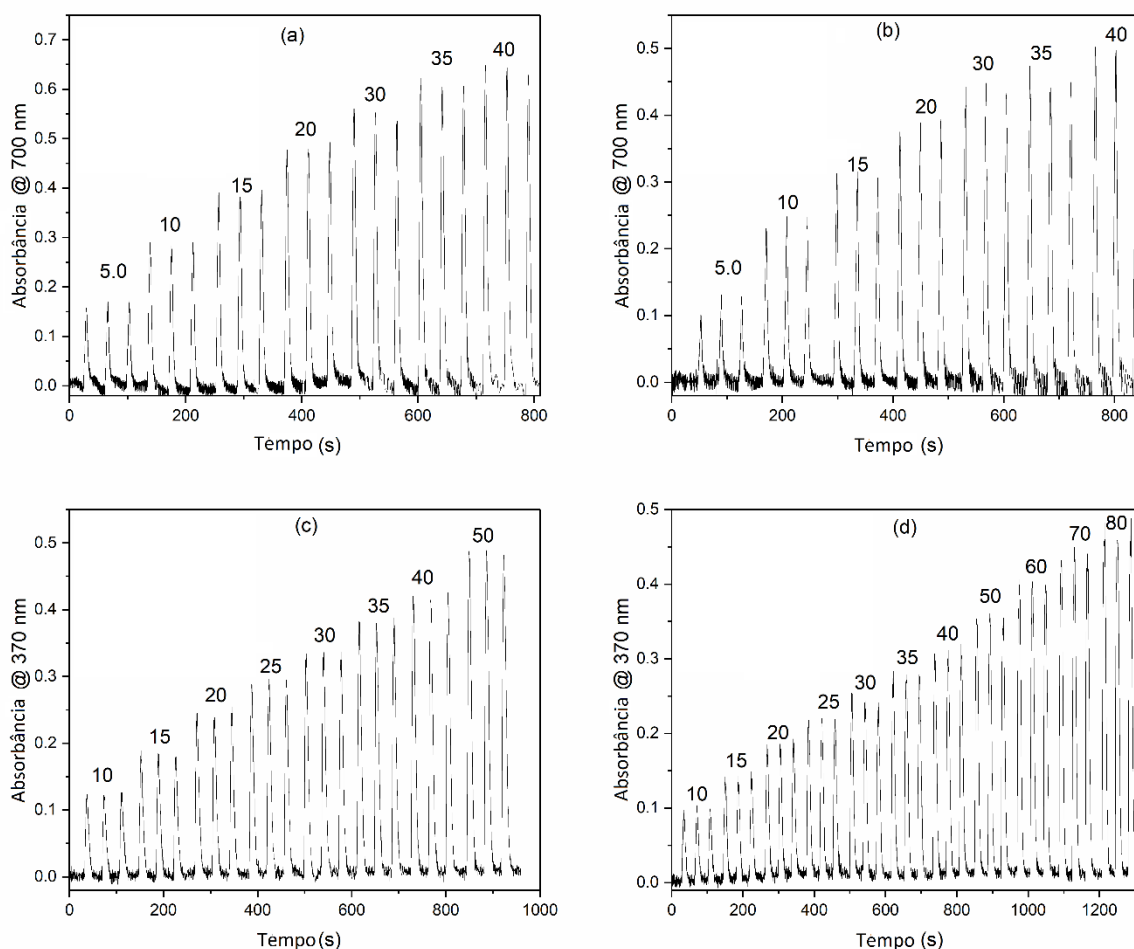
A utilização de MIP OES para a determinação de fósforo em fertilizantes oferece vantagens em termos de capacidade de detectar concentrações baixas de fósforo e a possibilidade de automatizar o processo de análise, tornando-a ideal para laboratórios de controle de qualidade ou indústrias que necessitam de um processo eficiente e com mínima intervenção manual. No entanto, a necessidade de equipamentos sofisticados e manutenção constante pode aumentar os custos, limitando seu uso em algumas situações.

O primeiro parâmetro avaliado para as metodologias em estudo foi a linearidade e a faixa de trabalho das curvas analíticas. Para tal foram realizadas as leituras dos padrões e construídas as curvas de calibração a partir da média de três replicatas para cada ponto da curva. Os resultados foram tratados através do software Minitab®, que determinou o coeficiente de determinação (r^2), o coeficiente angular e linear, os resíduos e a análise de variância no qual observa-se o valor de p que deve ser menor de 0,05 (nível de confiança) para garantir a validade da regressão linear com 95% de confiança. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 2 e a Figura 2 apresenta os gráficos de absorbância versus tempo para construir curvas de calibração por FIA para a determinação de fósforo em fertilizantes.¹⁰

Tabela 2: Curvas de calibração e análise de variância dos resíduos.

Curva de calibração	Matriz	Coeficiente angular (a)	Coeficiente Linear(c)	Coeficiente de determinação (r^2)
Método Azul de molibdênio	Água	0,0156	0,2071	0,997
Método Azul de molibdênio	CNA	0,0141	0,1378	0,995
Método Amarelo de molibdênio	Água	0,0104	0,0290	0,995
Método Amarelo de molibdênio	CNA	0,0064	0,0789	0,997
MIP OES	Água	100	132	0,998
MIP OES	CNA	46,50	31	0,999

Figura 2. (a) sinal transiente obtido para fosfato em água deionizada pelo método do azul de molibdênio; (b) sinais transientes obtidos para fosfato em CNA pelo método do azul de molibdênio; (c) sinal transiente obtido para fosfato em água deionizada pelo método do vanadofosfomolibdato amarelo; (d) sinais transientes obtidos para fosfato em CNA pelo método do vanadofosfomolibdato amarelo. Os números sobre os picos representam a concentração de P em mg. L⁻¹.



Observando a Tabela 2, referente a validação da linearidade e da faixa de trabalho, e sabendo que o critério para aceitação destes parâmetros é a obtenção de um coeficiente de correlação de no mínimo 0,99, inspeção visual da linearidade da curva e da normalidade ($p < 0,05$) dos resíduos individuais e da análise de variância onde o $p < 0,05$, podemos concluir que para as três metodologias os modelos lineares são adequados para as faixas de trabalho escolhidas, com nível de 95% de confiança.¹⁰

Foi possível definir através das leituras realizadas nos estudos anteriores os limites de detecção e quantificação dos métodos. O LQ foi estimado considerando-se 10 vezes o desvio padrão do sinal correspondente ao padrão de menor concentração utilizado na curva de calibração e o LD através de LQ/3,3. A Tabela 3 apresenta os dados obtidos.

Tabela 3: Limites de quantificação (LQ) e detecção (LD).

Método	Matriz	Desvio padrão branco	Limite de quantificação (LQ) (mg. L ⁻¹)	Limite de detecção (LD) (mg. L ⁻¹)
FIA-VIS-Azul de molibdênio	H ₂ O	0,0599	0,60	0,18
FIA-VIS-Azul de molibdênio	CNA	0,0764	0,76	0,23
FIA-UV-Amarelo molibdênio	H ₂ O	0,0831	0,83	0,25
FIA-UV-Amarelo molibdênio	CNA	0,0848	0,85	0,26
MIP-OES	H ₂ O	0,0114	0,11	0,03
MIP-OES	CNA	0,0184	0,18	0,06

A seletividade é um parâmetro utilizado para avaliar a eficiência de um método na quantificação de um analito, mesmo na presença de componentes da matriz ou de substâncias que possam interferir no resultado. Métodos capazes de diferenciar as respostas provenientes de diferentes analitos são considerados seletivos.¹⁸ A análise da seletividade normalmente envolve o estudo do efeito de matriz, que ocorre quando elementos da matriz influenciam a medição. Caso a matriz isenta do analito esteja disponível, são preparadas duas séries de amostras: uma contendo apenas a matriz e outra com a matriz e o analito, ambos nas mesmas concentrações. Em seguida, aplica-se uma análise estatística, utilizando testes t e F, para verificar possíveis impactos da matriz no sinal ou na precisão do resultado. No caso de não se ter a disponibilidade de uma matriz sem o analito, realiza-se uma comparação entre duas curvas analíticas: uma preparada com a adição do analito à matriz e outra com solução-padrão em água pura. Se as inclinações das curvas forem estatisticamente semelhantes, conclui-se que o efeito de matriz é inexistente.⁷

Para a avaliação do efeito de matriz do citrato neutro de amônio (CNA) foram realizadas as leituras dos padrões e obtidas as equações das curvas de calibração a partir da média de triplicatas para cada ponto da curva. Os resultados das razões entre os coeficientes angulares das equações das retas obtidas na presença e na ausência da matriz estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados do efeito de matriz na curva de calibração onde α_1 e α_2 são os coeficientes angulares das porções lineares das curvas de calibração construídas em água e CNA, respectivamente

Elementos	α_1 Curva Padrão em água	α_2 Curva com adição em CNA	Razão (α_1 / α_2)
Método Azul de molibdênio	0,0156	0,0141	1,11
Método Amarelo de molibdênio	0,0104	0,0064	1,61
MIP-OES	99,6	46,5	2,14

De acordo com as razões observadas entre os coeficientes angulares, conclui-se que existe uma interferência significativa da matriz nas determinações de fósforo por nebulização direta da solução, justificando assim a padronização da concentração de CNA tanto na curva de calibração quanto na amostra a ser analisada. Para esta padronização utilizou-se o próprio interferente (CNA) mantendo fixa a sua concentração em 0,3% conforme utilizado nas metodologias oficiais do MAPA.⁶ Ele se aplica para as metodologias FIA, especialmente para o amarelo de molibdênio.

O manual de garantia da qualidade analítica (2015) do MAPA diz que os estudos de precisão podem ser realizados utilizando os dados do estudo de recuperação de uma amostra com valores conhecidos, portanto o estudo de repetibilidade (precisão) foi realizado utilizando duas amostras de referência do programa interlaboratorial da ABISOLO (Associação Brasileira das Indústrias de Tecnologia em Nutrição Vegetal) os dados das amostras são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 Amostras de referência.

Origem da amostra	Identificação da amostra	Garantia de P ₂ O ₅	Extrator	Tipo de Fertilizante
Programa interlaboratorial ABISOLO	1º rodada/2023 02B	1,74%	Água	Aplicação foliar
Programa interlaboratorial ABISOLO	1º rodada/2024 08B	9,31%	CNA	Aplicação via solo

A repetibilidade avalia a consistência das medições realizadas pelo mesmo equipamento em condições idênticas, para este item as amostras foram analisadas sete vezes e os resultados foram avaliados e comparados aos certificados seguindo o critério do MAPA (calcular o coeficiente de variação e o DPR máximo pela equação de Horwitz), para avaliação dos resultados e se encontram apresentados nas tabelas 6 e 7. ⁶

Tabela 6: Estudo de repetibilidade: Amostra 1º rodada/2023 02B.

Replicatas	MIP-OES	FIA-VIS - Azul de molibdênio	FIA-UV - Amarelo molibdênio
Média	1,72	1,76	1,75
DP	0,020	0,018	0,017
CV (%)	1,16%	1,02%	0,98%
Horwitz* (%) previsto	1,52%	1,52%	1,52%
Valor do HORRAT	0,76	0,67	0,64

* Equação de Horwitz

Tabela 7: Estudo de repetibilidade: 1º rodada/2024 08B.

Replicatas	MIP-OES	FIA-VIS - Azul de molibdênio	FIA-UV - Amarelo molibdênio
Média	9,51	9,37	9,84
DP	0,262	0,175	0,183
CV (%)	2,76%	1,87%	1,86%
Horwitz* (%)	15,03%	15,03%	15,03%
Valor do HORRAT	0,18	0,12	0,12

* Equação de Horwitz

Com os valores de Horwitz, pode-se verificar se o desvio padrão relativo dos dados está dentro dos limites aceitáveis. De acordo com resultados observados, todos os coeficientes de variação obtidos com as determinações na amostra de fertilizantes de fertilizantes mineral 1º rodada/2024 08B. e 1º rodada/2023 02B. apresentaram valores menores que os DPRs calculados pela equação de Horwitz e o valor de HORRAT menor que 2, garantindo que os resultados de precisão, em termos de repetibilidade atendem aos critérios de qualidade e confiabilidade esperados para o método analítico utilizado.

A exatidão refere-se à proximidade entre os valores obtidos em medições repetidas de uma mesma amostra e o valor verdadeiro ou referência, realizadas sob as mesmas condições e com o mesmo equipamento. Para avaliá-la, pode-se utilizar os resultados do estudo de precisão (ou repetibilidade), cujos dados estão apresentados nas Tabelas 8 e 9. ⁷

Tabela 8: Repetibilidade – Erro relativo, Exatidão e IC: Amostra 1º rodada/2023 02B.

Replicatas	MIP-OES	FIA-VIS - Azul de molibdênio	FIA-UV - Amarelo molibdênio
Valor certificado P ₂ O ₅ (%)		1,74	
\bar{x} Valor encontrado P ₂ O ₅ (%)	1,72	1,76	1,75
\bar{x} Erro relativo (%)	-1,4	1,4	1,1
\bar{x} Recuperação/ Exatidão média (%)	99,0	101,0	100,6
Intervalo de confiança (IC) 95%	(1,7018; 1,7439)	(1,7389; 1,7766)	(1,7326; 1,7694)

Tabela 9: Repetibilidade – Erro relativo, Exatidão e IC: 1º rodada/2024 08B.

Replicatas	MIP-OES	FIA-VIS - Azul de molibdênio	FIA-UV - Amarelo molibdênio
Valor certificado P ₂ O ₅ (%)		9,31	
\bar{x} Valor encontrado P ₂ O ₅ (%)	9,51	9,37	9,84
\bar{x} Erro relativo médio (%)	3,5	0,6	5,7
\bar{x} Recuperação/ Exatidão média (%)	102,1	100,6	105,7
Intervalo de confiança (IC) 95%	(9,2244; 9,7873)	(9,1771; 9,5527)	(9,6438; 10,0380)

Os erros relativos variaram de -1,4 a 5,7% ficando abaixo de 20%, conforme o critério de aceitabilidade estabelecido, portanto, os métodos apresentaram boa exatidão.

A reprodutibilidade avalia a consistência das medições realizadas pelo mesmo equipamento em condições diferentes avaliando as mesmas amostras, para este item os padrões de 20 mg. L⁻¹ da curva de calibração (água e CNA) foram analisados sete vezes em dias diferentes e os resultados foram avaliados e comparados aos certificados seguindo o critério do MAPA (que recomenda calcular o coeficiente de variação e o DPR máximo pela equação de Horwitz), para avaliação dos resultados e se encontram apresentados nas Tabelas 10 e 11. ⁷

Tabela 10: Reprodutibilidade – Padrão 20 mg. L⁻¹ (Matriz aquosa).

Replicatas	MIP-OES	FIA-VIS - Azul de molibdênio	FIA-UV - Amarelo molibdênio
Média	20,20	20,57	20,18
DP	0,366	0,364	0,265
CV (%)	1,81%	1,77%	1,32%
Horwitz* (%)	8,94%	8,94%	8,94%
Valor do HORRAT	0,20	0,20	0,15

* Equação de Horwitz

Tabela 11: Reprodutibilidade – Padrão 20 mg. L⁻¹ (Matriz CNA).

Replicatas	MIP-OES	FIA-VIS - Azul de molibdênio	FIA-UV - Amarelo molibdênio
Média	20,46	20,53	20,84
DP	0,211	0,254	0,348
CV (%)	1,03%	1,24%	1,67%
Horwitz* (%)	8,94%	8,94%	8,94%
Valor do HORRAT	0,12	0,14	0,19

* Equação de Horwitz

Com os valores de Horwitz, pode-se verificar se o desvio padrão relativo dos dados está dentro dos limites aceitáveis. De acordo com resultados observados, todos os coeficientes de variação obtidos com as determinações dos padrões de 20 mg. L⁻¹ em ambas as matrizes, apresentaram valores menores que os DPRs calculados pela equação de Horwitz e o valor de HORRAT menor que 2, garantindo que os resultados de precisão intermediária, em termos de reprodutibilidade atendem aos critérios de qualidade e confiabilidade esperados para o método analítico utilizado.⁷

Os métodos desenvolvidos foram utilizados para determinação de fósforo em quatro amostras (Tabela 12) de fertilizantes comercializados pela Israel Chemicals (ICL) os resultados obtidos são apresentados na Tabela 13.

Tabela 12. Amostras em estudo.

Origem da amostra	Identificação da amostra	Garantia de P ₂ O ₅ (%)	Extrator	Tipo de Fertilizante
Produto ICL	Profol Cotton	13,00 ± 0,65	Água	Aplicação foliar
Produto ICL	Energy Granel	27,50 ± 1,38	Água	Aplicação foliar
Produto ICL	Infinity New NPK 02-18-00	18,00 ± 0,90	CNA	Aplicação via solo
Produto ICL	Phusion Power	50,00 ± 0,50	CNA	Aplicação via solo

Tabela 13. Resultados das amostras.

Amostra	Replicatas	MIP-OES	FIA-VIS - Azul de molibdênio	FIA-UV - Amarelo molibdênio
Profol Cotton	\bar{x} Valor encontrado P ₂ O ₅ (%)	13,01	13,07	13,06
	Desvio Padrão	0,045	0,147	0,086
	CV (%)	0,35%	1,12%	0,66%
	\bar{x} Erro relativo (%)	0,04%	0,54%	0,42%
Energy Granel	\bar{x} Valor encontrado P ₂ O ₅ (%)	27,59	27,58	27,66
	DP	0,053	0,033	0,090
	CV (%)	0,19%	0,12%	0,32%
	\bar{x} Erro relativo (%)	0,31%	0,29%	0,58%
Infinity New NPK 02-18-00	\bar{x} Valor encontrado P ₂ O ₅ (%)	18,31	18,21	18,11
	DP	0,020	0,114	0,102
	CV (%)	0,11%	0,63%	0,56%
	\bar{x} Erro relativo (%)	1,69%	1,17%	0,58%
Phusion Power	\bar{x} Valor encontrado P ₂ O ₅ (%)	50,38	50,27	50,38
	DP	0,166	0,053	0,078
	CV (%)	0,33%	0,11%	0,15%
	\bar{x} Erro relativo (%)	0,76%	0,53%	0,75%

Com base nos resultados obtidos pelo método desenvolvido para a determinação de fósforo, e ao compará-los com os valores especificados pelos produtos ICL, foi verificado que os erros relativos variaram de 0,04 a 1,69%. Esses valores estão dentro do limite de <20% estabelecido pelo Manual do MAPA para a verificação de desempenho. Com esses resultados positivos e validação da

confiabilidade do método o mesmo pode ser implementado como rotina no laboratório de fertilizantes.

Conclusões

Os resultados obtidos nos três métodos avaliados demonstraram que todos atenderam aos critérios de validação estabelecidos, com recuperações dentro da faixa de tolerância estipulada pelo MAPA (80–120%) e valores próximos a 100%, confirmando a exatidão, precisão e confiabilidade das metodologias propostas. A aplicação desses métodos em amostras de fertilizantes, tanto de programas interlaboratoriais quanto da empresa Israel Chemicals, usando extratores comuns como água e citrato neutro de amônio (CNA), demonstrou sua eficácia e adequação para rotinas de controle de qualidade. A introdução de sistemas automatizados de análise por injeção em fluxo (FIA) e espectrometria de emissão atômica com plasma de micro-ondas (MIP OES) proporcionou ganhos substanciais no rendimento da amostragem, quando comparados aos métodos tradicionais. Enquanto o método gravimétrico processa cerca de 10 amostras por hora e os métodos espectrofotométricos convencionais analisam aproximadamente 20 amostras por hora, as técnicas FIA-espectrofotométrica e MIP OES permitiram a análise de até 120 e 240 amostras por hora, respectivamente, mostrando-se mais eficientes para análise serial de grandes quantidades de amostras. Embora o MIP OES exija um investimento inicial mais elevado, ele se apresenta como uma alternativa acessível em comparação ao ICP OES, com excelente desempenho analítico. Esses resultados confirmam que as metodologias automatizadas ou metodologias mais modernas como o MIP OES são não apenas precisas, mas também rápidas e eficientes, atendendo às crescentes demandas de produtividade e qualidade na indústria de fertilizantes.

Agradecimentos

Agradecemos à empresa ICL América do Sul e ao Instituto de Química da USP.

Referências

1. Agilent Technologies, Inc.; *AA Troubleshooting & Maintenance Guide*, 5994-0858PTBR, USA, 2019. Available at: https://www.agilent.com/cs/library/troubleshootingguide/public/5994-0858PTBR_AA_Troubleshooting_Maintenance_Guide.pdf (accessed October 1, 2024).
2. Arai, Y.; Sparks, D. L.; in *Advances in Agronomy*, Elsevier: Amsterdam, 2007, pp. 135–179.
3. Balaram, V.; *Microchem. J.*, **2020**, *159*, 105483.
4. Brasil. Secretaria Especial de Assuntos Estratégicos; *Plano Nacional de Fertilizantes 2050 (PNF 2050)*, SAE: Brasília, 2021. Available at: <https://www.gov.br/planalto/.../Plano-Nacional-Fertilizantes.pdf> (accessed October 1, 2024).
5. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; *Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos*, MAPA: Brasília, 2017. Available at: https://www.gov.br/agricultura/.../manual-de-metodos_2017_isbn-978-85-7991-109-5.pdf (accessed October 1, 2024).
6. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; *Manual de Garantia da Qualidade Analítica: Amostragem e Análises Físico-Químicas para o Controle da*

- Qualidade de Fertilizantes Minerais*, MAPA/ACS: Brasília, 2015. Available at: https://www.gov.br/agricultura/.../manual-de-garantia-da-qualidade-analitica_2015.pdf (accessed January 24, 2025).
7. Brito, N. M.; Silva, F. V.; Nogueira, A. R. A.; Abakerli, R. B.; Tornisielo, V. L.; *Pesticidas*, **2003**, *13*, 129.
 8. Dametto, P. R.; *Desenvolvimento de um sistema de injeção em fluxo para a determinação sequencial de fosfito e fosfato em amostras agroindustriais por espectrofotometria*; MSc Dissertation, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brazil, 2003. Available at: <https://repositorio.unesp.br/entities/publication/5a8f9286-24e6-4f94-bc74-1694ffd9fd6b> (accessed November 14, 2024).
 9. Maruchi, A. K.; *Fracionamento de fósforo em plantas empregando diferentes procedimentos de preparo de amostras e sistemas de análise em fluxo monossegmentado*; MSc Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil, 2015. Available at: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/46/46133/tde-16112006-110659/pt-br.php> (accessed October 1, 2024).
 10. Montgomery, D. C.; *Introduction to Statistical Quality Control*, 6th ed.; John Wiley & Sons: Chichester, 2009.
 11. Murphy, J.; Riley, J. P.; *Anal. Chim. Acta*, **1962**, *27*, 31.
 12. Paula, R. M.; *Comparação de metodologia analítica na determinação de fósforo em fertilizante*; BSc Thesis, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Brazil, 2015. Available at: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/105051> (accessed November 14, 2025).
 13. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Flow Injection Analysis*, 2nd ed.; John Wiley & Sons: Nashville, 1988.
 14. Silva, F. V.; Souza, G. B.; Nogueira, A. R. A.; *Utilização de sistemas de análise por injeção em fluxo em laboratório de nutrição animal: sistema polivalente para determinação multielementar em plantas*; EMBRAPA-CPPSE, Boletim de Pesquisa 3, São Carlos, 1998. Available at: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/.../PROCIBP3ARAN1998.00110.pdf> (accessed October 1, 2024).