

*Anais*

# III CONGRESSO BRASILEIRO DE ROCHAGEM

## Editores

Adilson Luis Bamberg

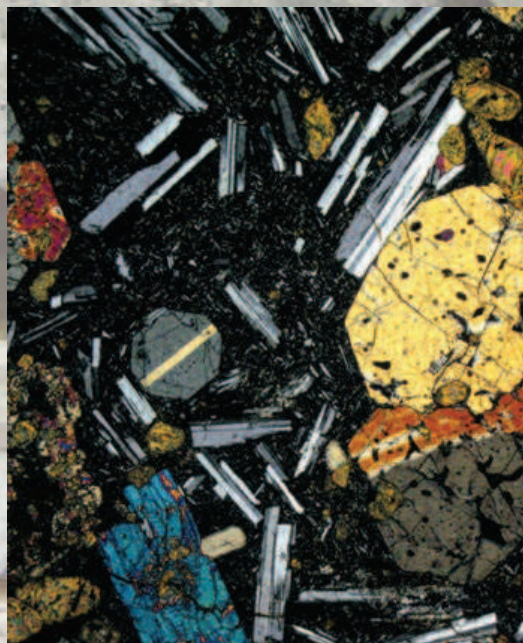
Carlos Augusto Posser Silveira

Éder de Souza Martins

Magda Bergmann

Rosane Martinazzo

Suzi Huff Theodoro



# PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO PARA DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO E SELÊNIO POR GF AAS EM SOLOS SUBMETIDOS A REMINERALIZADORES DE SOLO

Ellen Cristina Perin<sup>1</sup>; Daiane Plácido Torres<sup>2</sup>; Simoni Becker<sup>3</sup>; Cesar Valmor Rombaldi<sup>4</sup>, Carlos Augusto Posser Silveira<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – UFPEL ellenperin@hotmail.com, <sup>2</sup>Embrapa Clima Temperado Pelotas - daiane.torres@embrapa.br; <sup>3</sup>Embrapa Clima Temperado - beckersimoni@gmail.com, <sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas - cesarvrf@ufpel.edu.br, <sup>5</sup>Embrapa Clima Temperado - agosto.posser@embrapa.br

**Sumário:** Visando a obtenção de um método eficiente e otimizado para realizar a determinação de arsênio e selênio em solo esse estudo teve como objetivo realizar a otimização de um método analítico para determinação desses elementos pela aplicação de planejamento fatorial fracionário em solo. Tal método será utilizado posteriormente para determinações em solo com estudo de adubações alternativas para verificar os teores desses elementos em diferentes culturas. Para tal após preparação e amostragem do solo, foram submetidas a um planejamento fatorial fracionário  $2^{4-1}$  tendo como variáveis: massa, ácido nítrico, ácido fluorídrico e banho ultrassônico. A partir da suspensão obtida em cada experimento foram realizadas as leituras em Espectrômetro de Absorção Atômica com Forno de Grafite com seus respectivos parâmetros para cada analito. Após o tratamento dos dados estatísticos, com relação ao arsênio, nenhum dos fatores apresentaram influência significativa. No entanto para selênio tanto a variável massa como a presença de ácido fluorídrico apresentaram influencia. Logo, o método definido em relação aos fatores significativos foi: 0,050 g de solo, adição de 150 µL de HF (40%). Quanto aos outros dois fatores que não apresentaram significância para ambos os analitos, foram escolhidos visando melhor benefício, sendo eles: maior tempo no banho de ultrassom, pois produz uma suspensão mais clara, qualidade desejada para a técnica de suspensão, sendo adotado, então 120 minutos, e menor volume de  $\text{HNO}_3$  (1 mL de  $1\text{HNO}_3:3\text{HCl}$ ) pela utilização de água régia.

**Palavras-chave:** otimização; elemento tóxico; elemento antioxidante

## INTRODUÇÃO

Os metalóides pertencem à mesma família do oxigênio e enxofre, dentre eles, o selênio (Se) é um dos elementos de grande importância para saúde animal e das plantas. No caso do arsênio (As), a exposição das plantas a esse cátion resulta em toxicidade, inibição do crescimento, perturbações fisiológicas e até a morte. Para combater essas condições de estresses, as plantas desenvolvem mecanismos de proteção visando à eliminação de radicais livres, através da produção de compostos antioxidantes e sistema enzimático. O Se é conhecido por regular expressão de superóxido dismutase e glutathione peroxidase, além do aumento nos níveis de prolina e peroxidase, reduzindo, portanto, os danos oxidativos nas plantas, além de ser antagonista ao arsênio

(MALIK et al., 2012). No solo, as concentrações variam dependendo de fatores como material de origem, lixiviação, ação antrópica, composição e características físicas e químicas do solo, bem como dos processos subsequentes que contribuem para sua acumulação no solo (MALAGOLI et al., 2015). Em termos analíticos a maioria dos estudos apresenta um foco maior na parte comestível das plantas, restando uma restrita atenção ao solo, o qual é de suma importância para realização de estudos de translocação desses analitos. Além disso, em sua maioria são métodos demorados que demandam muito tempo e apresentam menor praticidade, sendo necessário, portanto o desenvolvimento de um método rápido e eficaz para esses elementos. O método analítico otimizado é baseado em espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS). Outro fator importante a ser ressaltado é que a legislação brasileira estipula valores máximos de arsênio assim como outros elementos, em remineralizadores e fertilizantes minerais (BRASIL 2006, BRASIL 2016). Nesse contexto, esse estudo objetivou a otimização de um método analítico para determinação de Se e As em solo pela aplicação de planejamento fatorial fracionário, método tal que será utilizado posteriormente para determinações desses elementos tanto no solo quanto em órgãos de colheita de diferentes culturas agrícolas a partir do uso de diferentes fontes alternativas de nutrientes (remineralizadores de solo).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Delineamento experimental**

Amostra de solo utilizada advém de experimento na cultura do arroz anteriormente conduzido em casa de vegetação na Embrapa Clima Temperado – Estação Terras Baixas, no qual foram adicionadas apenas fontes solúveis de NPK (ureia, superfosfato triplo e cloreto de potássio) de acordo com as recomendações da cultura e o solo amostrado ao final do experimento (aproximadamente 500 g de solo). Nesse estudo inicial apenas foram utilizadas as amostras de solo com o tratamento controle (sem adubação alternativa) para proceder a padronização do método. Após esse estudo, serão realizadas as quantificações nos solos onde foram cultivadas diferentes culturas (arroz, trigo e quinoa) utilizando fonolito e xisto retornado como fontes de nutrientes. Os procedimentos analíticos foram executados nos laboratórios da Central Analítica da Embrapa Clima Temperado. Após a coleta do solo, foi realizado o quarteramento e as amostras foram encaminhadas para análises posteriores, sendo destinados aproximadamente 50 g para determinação de selênio e arsênio (As e Se). As amostras foram previamente secas em estufa com circulação de ar a 60 °C até peso constante, moídas até serem reduzidas granulometricamente para mesh de 105 (0,105 mm). Para realização da otimização do método para determinação de As e Se em solo, as amostras foram submetidas a planejamento fatorial fracionário  $2^{4-1}$ . Para tal, foram utilizadas combinações das variáveis experimentais, sendo elas: massa da amostra (0,050 ou 0,075 g), volume de ácido nítrico (1 ml de água régia (3:1 ácido clorídrico:ácido nítrico v/v) ou 1 ml de ácido nítrico), o volume de ácido fluorídrico (0 ou 0,150 ml) e tempo de ultrassom (90 ou 120 min). O volume final da amostra resultante deste procedimento (uma suspensão) foi ajustado para 15,0 mL com água ultrapura. Após a digestão em ultrassom, a suspensão foi acondicionada em vial do amostrador automático e injetada no Espectrômetro de Absorção Atômica com Forno de Grafite (AA240Z - VARIAN), as leituras das absorvâncias das amostras foram descontadas de leituras do branco dos reagentes (sem adição das amostras).

## Instrumentação e condições

Todas as medidas de Se e As nas amostras de solo foram executadas utilizando espectrômetro de absorção atômica com atomizador de grafite longitudinalmente aquecido com correção de fundo por efeito Zeeman. Inicialmente, em relação ao Se, as condições utilizadas foram: 20 µL da amostra padrão ou solução; 5 µL da mistura de Pd-Mg como modificadores químicos em solução. As temperaturas de pirólise e atomização foram otimizadas e as condições adotadas foram 500/2200 °C. As soluções padrão de calibração foram preparadas em meio de ácido nítrico 5,0% v/v. As curvas de calibração foram preparadas nas concentrações de 10,0-100,0 µg L<sup>-1</sup>. A lâmpada utilizada foi monoelementar codificada UltraA de selênio (Agilent) e comprimento de onda 196,0 nm. Para determinação do arsênio as condições utilizadas foram: 20 µL da amostra padrão ou solução; 5 µL de Pd como modificador químico em solução. As temperaturas de pirólise e atomização foram otimizadas e as condições adotadas foram 700/2300 °C. As soluções padrão de calibração foram preparadas em 5,0% de ácido nítrico v/v. A curva de calibração foi preparada com as concentrações de 5,0-50,0 µg L<sup>-1</sup>. A lâmpada utilizada foi cátodo oco monoelementar de arsênio (codificada com 4 pinos) (Agilent) e comprimento de onda 193,7 nm. Após a análise das amostras resultantes do planejamento fatorial fracionário 2<sup>4-1</sup> para determinação de As e Se, os resultados foram submetidos ao programa estatístico STATISTICA 7 para obtenção do gráfico de Pareto da estimativa dos efeitos. Posteriormente, para interpretação dos resultados e tomada de decisão quanto aos experimentos (significância dos efeitos), foi calculado o quadrado dos valores obtidos na estimativa dos efeitos, somado os valores dos oito experimentos, divididos pelos quatro fatores (Massa, HNO<sub>3</sub>, HF e US) e, por fim, calculada a raiz quadrada do resultado obtido no cálculo anterior, de acordo com Neto et al., (2010).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações em µg g<sup>-1</sup> de Se e As após a realização dos devidos cálculos variaram entre 2,37 a 13,88 µg g<sup>-1</sup> e 9,05 a 32,14 µg g<sup>-1</sup> de Se e As, respectivamente (tabela 1).

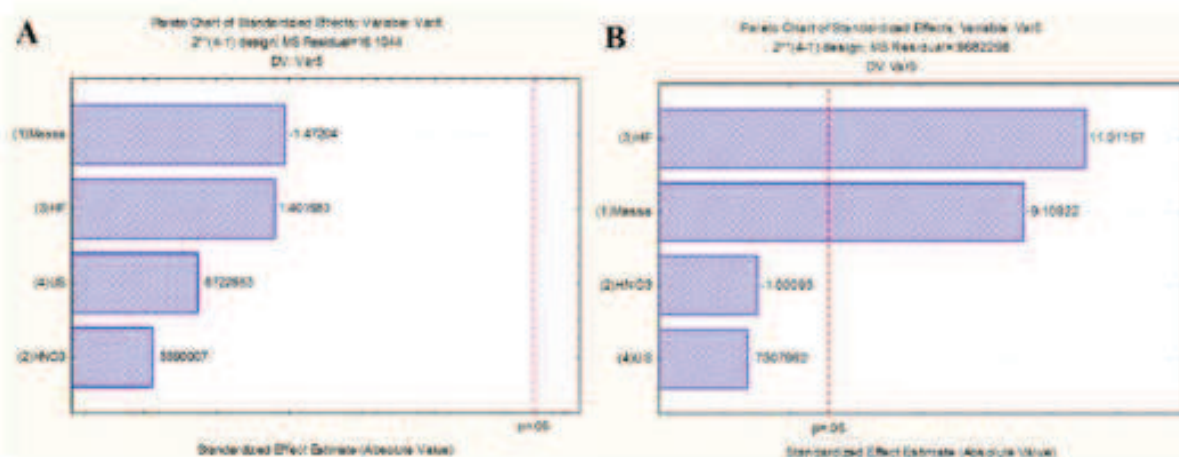
**Tabela 1** – Planejamento experimental fracionário 2<sup>4-1</sup> aplicado em solo (tratamento controle – fontes solúveis de nutrientes) para otimização da determinação de selênio (Se) e arsênio (As) por GF AAS.

Planejamento experimental	Desenho experimental: 2 <sup>**</sup> (4-1)				Se	As
	Massa	HNO <sub>3</sub>	HF <sup>1</sup>	US <sup>2</sup>	Concentração (ug g <sup>-1</sup> )	
1	-	-	-	-	5,45	32,14
2	+	-	-	+	2,39	15,85
3	-	+	-	+	8,13	34,49
4	+	+	-	-	2,37	9,05
5	-	-	+	+	13,88	15,51
6	+	-	+	-	9,64	20,44
7	-	+	+	-	11,50	17,75
8	+	+	+	+	8,26	14,02

<sup>1</sup>HF – ácido fluorídrico; <sup>2</sup>US – tempo de ultrassom

Apesar de não se ter graus de liberdade suficientes nos planejamentos (experimentos feitos em unicata) para julgar os gráficos de Pareto pela linha tracejada, a partir do cálculo de significância dos efeitos para As, valor de 4,18, é possível observar a partir do gráfico da Figura 1A que nenhum dos fatores avaliados apresentaram influência significativa. Deste modo, é possível usar o nível dos fatores avaliados que se julga o mais conveniente. Sendo assim, podem-se avaliar os resultados do planejamento para Se e tentar equiparar as condições para decomposição das amostras, visando facilitar a determinação de ambos os analitos pela utilização de apenas uma suspensão. A figura 1B apresenta o gráfico gerado para Se. O valor obtido para significância de efeito para Se foi de 6,33. Portanto, apenas os fatores HF (ácido fluorídrico) e massa foram significativos. Quanto ao HF, o nível mais alto apresentou melhores resultados, ou seja, a presença de HF (aplicação de 0,150 mL de HF) se mostrou importante. Além disso, o nível mais baixo para o fator para massa de amostra (0,050 g) foi estatisticamente mais adequado. Deste modo, o método definido em relação aos fatores significativos foi: 0,050 g de solo, adição de HF. Quanto aos outros dois fatores que não apresentaram significância para ambos os analitos, foram escolhidos visando melhor benefício, sendo eles: maior tempo no banho de ultrassom, pois produz uma suspensão mais clara, qualidade tal desejada para a técnica de suspensão, sendo adotado, então 120 minutos, e menor volume de  $\text{HNO}_3$  pela utilização de água régia.

**Figura 1** – Gráfico de Pareto do planejamento experimental fracionário aplicado para As (A) e Se (B).



## CONCLUSÕES

A utilização de suspensão ácida com a utilização de água régia e ácido fluorídrico, menor quantidade de massa e exposição do ultrassom em solo apresentou-se como uma forma prática, confiável e rápida para determinação de Se e As em solo por GF AAS, amplamente facilitada pela aplicação do planejamento experimental fracionado  $2^{4-1}$  utilizado para otimização dos parâmetros de extração dos analitos. Possibilitando dessa forma, realizar as determinações nos solos onde foram aplicados os remineralizadores de foco desse estudo.

## AGRADECIMENTOS

Embrapa Clima Temperado, Capes e CNPq.

## REFERÊNCIAS

BARROS NETO, B., SCARMINIO, I. S., BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria** (4ª edição ed.). Porto Alegre, Brasil: Bookman, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa SDA nº 27, de 05 de junho de 2006. Dispõe sobre fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes, para serem produzidos, importados ou comercializados, deverão atender aos limites estabelecidos nos Anexos I, II, III, IV e V desta Instrução Normativa no que se refere as concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos, patogênicos ao homem, animais e plantas, metais pesados tóxicos, pragas e ervas daninhas. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 de junho de 2006. Seção 1. p.15.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 5 de 10 de março de 2016. Altera a Instrução Normativa nº 53 de 2013. Diário Oficial da União, Brasília, n.49.

GUNTS, R. F.; MASON, R. L. Fractional factorial design. **Wires Computation Statistics**, v. 1, p., Issue 2, p. 234–244, 2009.

MALAGOLI, M. et al. Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. April, p. 1–5, 2015.

MALIK, J. A. et al. Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, v. 77, p. 242–248, 2012.