

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

Arthur Felipe Burg

**ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE CROMO EM  
FERTILIZANTES ORGÂNICOS**

Santa Maria, RS  
2023

**Arthur Felipe Burg**

**ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE CROMO EM  
FERTILIZANTES ORGÂNICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Química  
Bacharelado da Universidade Federal  
de Santa Maria (UFSM, RS), como  
requisito parcial para a obtenção do  
título de **Bacharel em Química.**

Orientador: Prof. Dr. Valderi Luiz Dressler

Santa Maria, RS  
2023

**Arthur Felipe Burg**

**ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE CROMO EM  
FERTILIZANTES ORGÂNICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Química  
Bacharelado da Universidade Federal  
de Santa Maria (UFSM, RS), como  
requisito parcial para a obtenção do  
título de **Bacharel em Química**.

Aprovado em 13 de fevereiro de 2023.



---

**Valderi Luiz Dressler, Dr. (UFSM)**  
**(Presidente/Orientador)**



---

**Cristiane Pappis, Quím. Ind. (UFSM)**

Santa Maria, RS  
2023

## **AGRADECIMENTOS**

A conclusão da graduação jamais seria possível sem o suporte e de pessoas e profissionais, que ensinaram e engrandeceram meu conhecimento e crescimento, tanto profissional como pessoal, portanto, lhes devo o mais sincero agradecimento.

A minha mãe Joice e meu padrasto Pedro, obrigado por serem minha base e inspiração durante esse processo. Agradeço por não deixarem faltar amor, apoio e incentivo para que tudo se concretizasse.

Ao meu pai, Ivo, obrigado pela preocupação, conversas e auxílio.

Aos meus irmãos, Matheus, Thaís e Estevão que mesmo de longe mostravam felicidade, alegria e suporte. Obrigado.

A minha namorada, Renata, obrigado por ser minha companheira, pelo apoio incondicional, auxílio e pela alegria diária. Agradeço por manter tudo mais leve para continuar.

Aos meus sogros Elbio e Lourdes, por incentivarem a realizar a graduação e auxílio.

Ao meu orientador, Valderi, obrigado por aceitar ser meu orientador, pelos aprendizados e disponibilidade, com certeza o trabalho não seria dessa forma sem seu auxílio.

Aos colegas de laboratório, Dylan, Cristian, Cristiane, Ana e Flávia, que ao longo desses anos ensinaram, ouviram e auxiliaram.

Agradeço também ao LAQIA, pelo acolhimento, excelentes equipamentos e disponibilidade para realização da pesquisa.

Ainda, agradeço a Universidade Federal de Santa Maria pelo ensino público de qualidade, e aos órgãos de fomento por permitirem o estudo.

## RESUMO

### ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE CROMO EM FERTILIZANTES ORGÂNICOS

AUTOR: Arthur Felipe Burg

ORIENTADOR: Prof. Dr. Valderi Luiz Dressler

Os resíduos de curtume são constituídos de materiais orgânicos de origem animal misturados com sais inorgânicos. Dentre eles, nutrientes que são essenciais a plantas e microrganismos, como nitrogênio, cálcio, enxofre, fósforo, magnésio e potássio, possibilitando seu uso como fertilizantes, bem como seu reaproveitamento. Entretanto, sais de cromo são amplamente aplicados no tratamento do couro, tornando imprescindível o monitoramento de suas concentrações em fertilizantes. O cromo pode ser encontrado em diversos estados de oxidação, sendo o Cr(III) e Cr(VI), as duas espécies mais estáveis. Elas diferem significativamente pela sua ação biológica e química, destacando-se que o Cr(III) é essencial aos seres humanos, enquanto o Cr(VI) é tóxico. Por este motivo, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) definiu seu limite máximo permitido em  $2 \text{ mg kg}^{-1}$ . Várias técnicas analíticas para a especiação de cromo são descritas na literatura, dentre as quais estão a determinação por métodos eletroanalíticos, espectrometria atômica, como a cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (LC-ICP-MS), e a determinação espectrofotométrica. A espectrofotometria é a mais utilizada por seu baixo custo, robustez e larga escala de utilização. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um método de especiação de cromo por espectrofotometria na região do visível (VIS), baseada na extração alcalina com NaOH/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> descrita pela United States Environmental Protection Agency (EPA) através do método 3060a, (EPA) *clean up* dos extratos amostrais com carvão ativado. Foram estabelecidos as características analíticas do método, as quais atendem ao valor máximo de Cr(VI) do MAPA. Das amostras analisadas, apenas um dos fertilizantes está abaixo do limite máximo permitido. Assim, o método mostra-se eficiente, robusto e de baixo custo.

**Palavras-chave:** Cromo. Especiação. Fertilizantes orgânicos. Espectrofotometria.

## ABSTRACT

### CHROME CHEMICAL SPECIATION ANALYSIS IN ORGANIC FERTILIZERS

AUTHOR: Arthur Felipe Burg  
ADVISOR: Prof. Dr. Valderi Luiz Dressler

Tannery waste is constituted of organic materials of animal origin mixed with inorganic salts. Among them, nutrients that are essential to plants and microorganisms, such as nitrogen, calcium, sulfur, phosphorus, magnesium and potassium, enabling their use as fertilizers, as well as their reuse. Although, chromium salts are largely applied in leather tanning, making monitoring its concentrations in fertilizers indispensable. Chrome can be found in various stages of oxidation, with its to most stable species being Cr(III) and Cr(VI). They significantly differ by their biological and chemical action, highlighting that Cr(III) is essential to humans, while Cr(VI) is toxic. For that reason, Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) defined its maximum level as 2 mg kg<sup>-1</sup>. Many speciation analytical techniques are described in literature, among them are determination by electroanalytical methods, atomic spectrometry, such as liquid chromatography associated with inductively coupled plasma mass spectrometry LC-ICP-MS, and spectrophotometric determination. Spectrometry is the most used because of its low cost, robustness, and large scale usage. Thus, this research had as its objective the development of a chrome speciation method by visible (VIS) spectrometry, based in the NaOH/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> alkaline extraction, described in the United States Environmental Protection Agency (EPA) 3060a method, activated charcoal sample stratum *clean up*. The method analytical characteristics were established, which comply with MAPA's Cr(VI) maximum level. Between the analyzed samples, only one of the fertilizers complies with the defined limit. Thereby, the method shows itself to be efficient, robust, and low cost.

**Keywords:** Chrome. Speciation. Organic fertilizers. Spectrometry.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	10
	2.1 OBJETIVO GERAL .....	10
	2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	11
	3.1 QUÍMICA DO CROMO .....	11
	<b>3.1.1</b> Reação de oxidação e redução .....	11
	<b>3.1.2</b> Processos físico-químicos .....	13
	3.2 FERTILIZANTES ORGÂNICOS .....	13
	3.3 TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DE Cr .....	15
	<b>3.3.1</b> Determinação espectrofotométrica .....	16
	3.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO .....	17
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	18
	4.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS .....	18
	<b>4.1.1</b> Materiais .....	18
	<b>4.1.2</b> Equipamentos .....	18
	<b>4.1.3</b> Reagentes, soluções e amostras .....	18
	4.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL .....	19
	<b>4.2.1</b> Preparo da curva de calibração .....	19
	<b>4.2.2</b> Extração e quantificação do Cr(VI) .....	19
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	22
	5.1 PARÂMETROS OTIMIZADOS .....	22
	5.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS .....	28
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	30
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	31

## 1 INTRODUÇÃO

O cromo pode estar presente no ambiente de forma natural, como em rochas, ou introduzido por fontes antropogênicas. Na maioria dos casos, a disposição do elemento é relacionada com a contaminação do local, porém, dependerá da concentração e, principalmente, da forma química, na qual há duas espécies mais estáveis: cromo hexavalente (Cr(VI)), que é extremamente tóxico para plantas, animais e seres humanos, e o cromo trivalente (Cr(III)), essencial aos seres humanos nas devidas concentrações (NAMIEŚNIK & RABAJCZYK, 2012).

O uso de fertilizantes na agricultura é amplamente utilizado e é praticamente indispensável, porém, podem provocar contaminações por Cr(VI) em solos, plantas e águas de superfície. Devido a isso, com o decorrer dos anos, novas técnicas de produção desses insumos têm surgido, visando minimizar as contaminações, entre elas o reaproveitamento de resíduos industriais para a fabricação de fertilizantes orgânicos. Entretanto, além de atender os requisitos para ser uma boa fonte de nutrientes e contribuir com a diminuição da carga de resíduos no meio ambiente, há também a preocupação com a quantidade de elementos considerados tóxicos presentes tanto nos fertilizantes quanto na matéria-prima (KRÜGER et al., 2017)

O reaproveitamento de resíduos da indústria de curtume para a produção de fertilizantes orgânicos mostra-se viável devido a considerável quantidade de nitrogênio (em torno de 14%) na sua forma orgânica, além da própria matéria orgânica e a lenta e controlada liberação dos nutrientes para as plantas (OLIVEIRA et al., 2008). Contudo, o principal tratamento do couro ainda é realizado com sais de cromo, sendo necessário o monitoramento da concentração do elemento nos resíduos e fertilizantes derivados.

A relação do pH e o potencial redox do meio são fatores cruciais para a estabilidade das espécies, onde, alguma variação pode acarretar na interconversão entre as mesmas, atribuindo diferentes características (KOTÁS; STASICKA, 2000). Portanto, a quantificação de cromo total não fornece informações suficientes a sua toxicidade, por isso, em 2016, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), alterou a Normativa de contaminantes em fertilizantes orgânicos, reivindicando o controle de Cr(VI) e suprimindo a recomendação para cromo total (MAPA, 2016).

Por isso, são necessárias metodologias apropriadas para separar e quantificar estas espécies de cromo. Na literatura, são encontrados alguns estudos realizados para



a especiação de cromo em matrizes como solo, água, fármacos e produtos alimentícios, porém, em amostras com elevados teores de matéria orgânica (MO), observa-se dificuldades na quantificação das espécies, especialmente cromo hexavalente.

Portanto, o presente trabalho tem por objetivo propor um método de especiação de cromo utilizando a técnica de espectrofotometria VIS, visando atender os limites estabelecidos MAPA, além de um preparo de amostra compatível para a quantificação.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral deste trabalho de conclusão de curso é o desenvolvimento de um método de especiação de cromo para amostras de fertilizantes orgânicos utilizando a espectrofotometria VIS, baseado na EPA 3060a.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Os objetivos específicos deste trabalho, que visam o alcance do objetivo geral, estão listados abaixo:

- a) Avaliar a extração alcalina e quantificação por espectrofotometria VIS, aplicado a fertilizantes orgânicos;
- b) Avaliar diferentes adsorventes frente a remoção da cor inicial do extrato;
- c) Verificar se as concentrações de Cr(VI) em amostras de fertilizantes orgânicos estão abaixo do limite estabelecido pelo MAPA.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 QUÍMICA DO CROMO

O cromo é encontrado de forma natural em rochas, principalmente na cromita, plantas, animais e solos, podendo formar vários compostos quando combinados com outros elementos nesses meios. É utilizado em diversas áreas industriais, como a metalúrgica, produção de tintas, galvanização, curtimento, entre outras (NAMIEŚNIK; RABAJCZYK, 2012).

O elemento pode ser encontrado em diversos estados de oxidação, porém, somente três são estáveis no meio ambiente, sendo eles o cromo metálico (estado fundamental), Cr(III) e Cr(VI), enquanto que Cr(II), Cr(IV) e Cr(V) são produtos instáveis das reações de oxidação e redução que ocorrem com Cr(III) e Cr(VI) (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2012).

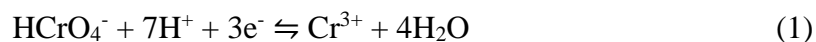
A sua forma no ambiente, depende, principalmente, das condições que causam transformações químicas que afetam sua biodisponibilidade e mobilidade. A medida que o Cr(III) é estável, pouco móvel em solo e água, pode naturalmente ser oxidado a Cr(VI), que por sua vez possui maior mobilidade e que é facilmente reduzido à espécie anterior por agentes redutores como fosfato, Fe(II), sulfito, matéria orgânica e sulfato (KOTÁS; STASICKA, 2000). Além disso, no solo, podem sofrer uma série de conversões sob influência do pH, processos físico-químicos, precipitação/dissolução, adsorção/dessorção e redução/oxidação.

As duas espécies mais estáveis diferem-se significativamente pela sua ação biológica e química. Enquanto o Cr(III) é essencial para aos seres humanos, em determinadas quantidades, atuando no metabolismo da insulina, proteínas e glicose, o Cr(VI) é tóxico, por ser solúvel, com alta capacidade oxidante, permeável através das membranas biológicas vindo a interagir com ácidos nucleicos e proteínas. Em função disso, o cromo hexavalente é carcinogênico e mutagênico em animais e humanos (ANDERSON; KOZLOVSKY, 1985; WANG, 2010).

##### 3.1.1 Reação de oxidação e redução

O pH e o potencial redox (Eh) são cruciais na interconversão das espécies entre os estados de oxidação do cromo. Em condições ácidas, o Cr(VI) possui um alto valor

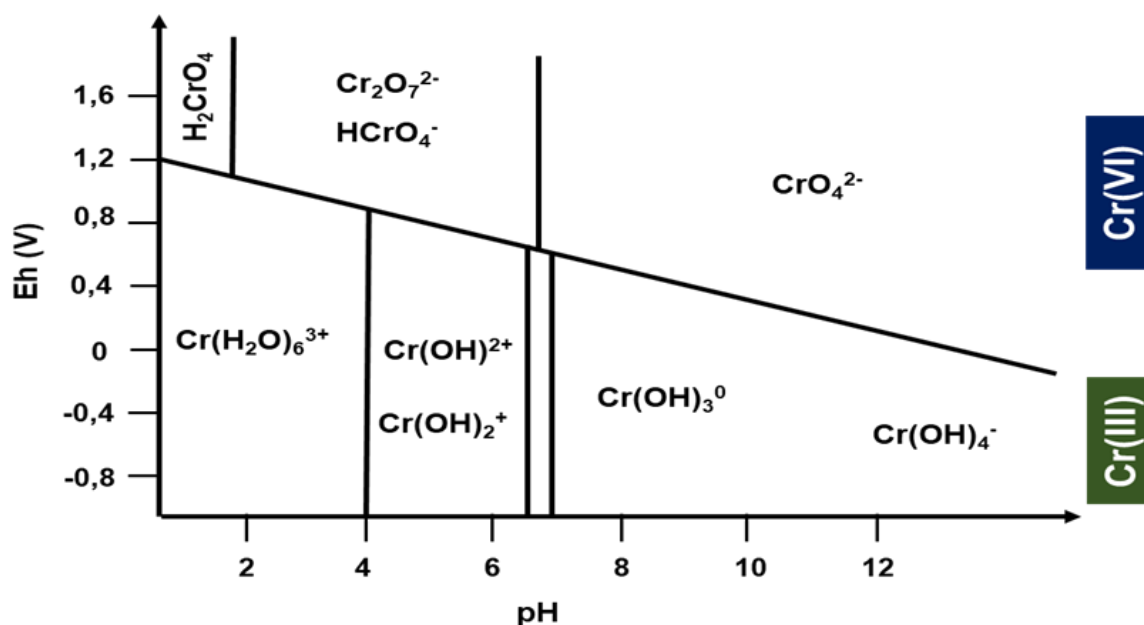
de Eh, ou seja, é um forte agente oxidante, o que faz com que se reduza facilmente, sendo instável na presença de doadores de elétrons, como o  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{S}^{2-}$  e matéria orgânica (Equação 1).



Quando o pH é próximo à neutralidade, o equilíbrio entre Cr(III) e Cr(VI) controla-se pelo oxigênio contido na solução. Entretanto, em meio alcalino, a espécie hexavalente tende a se manter estável, o que faz com que seu caráter oxidante seja quase ineficaz.

A presença de oxidantes e redutores também afetam a ação redox do cromo, ainda que o valor de Eh para Cr(VI)/Cr(III) seja alto, pode ocorrer a interconversão entre as espécies, contudo apenas alguns agentes são encontrados em concentrações capazes de promover o fenômeno. Ainda, o oxigênio dissolvido não é capaz de promover a oxidação da espécie trivalente para a hexavalente se não conter compostos adicionais, como óxidos de manganês, e condições ideais de pH, as quais são abaixo de 5, como pode ser visualizado na Figura 1 (ZAYED et al., 2003).

Figura 1 - Espécies de Cr(III) e Cr(VI) em função do Eh *versus* pH em meio aquoso



Fonte: KOTÁS; STASICKA (2000).

### 3.1.2 Processos físico-químicos

Além do pH do meio, parâmetros como a precipitação, dissolução, adsorção e dessorção influenciam na concentração e distribuição das espécies de cromo. Sob condições predominantes em água de superfície, o Cr(III) tende a formar hidróxidos insolúveis com estruturas minerais como o  $\text{CrFe}(\text{OH})_3$ , que possui menor solubilidade que o  $\text{Cr}(\text{OH})_3$  e ainda é estável no solo, ou seja, sofre pouca mobilidade. Enquanto isso, o Cr(VI), na forma de cromatos e dicromatos, possui alta solubilidade em água em uma ampla faixa de pH, além da alta mobilidade no solo.

Além disso, podem ocorrer processos de adsorção e dessorção, visto que a primeira causa a migração do cromo para sedimentos suspensos ou fixos, onde o equilíbrio depende de fatores ambientais complexos, como o pH e área de superfície do adsorvente. Ressalta-se ainda que minerais que possuem grupos hidroxila (OH) na sua superfície, podem adsorver o Cr(VI) dissolvido, sendo que em valores mais baixos de pH esse processo ocorre com maior facilidade.

## 3.2 FERTILIZANTES ORGÂNICOS

Os fertilizantes são definidos como “substâncias minerais ou orgânicas, naturais ou sintéticas, fornecedoras de um ou mais nutrientes às plantas” e de acordo com o Decreto 8.655 de 1982, o qual regulamenta a Lei 6.894 de 1980 (BRASIL, 1982), este tem a função de repor ao solo os elementos que são retirados ao longo da produção (SANTOS et al., 2002).

Os fertilizantes orgânicos, são de natureza fundamentalmente orgânica, com composição ou adição de micronutrientes, sendo essenciais as plantas. A obtenção pode ser por processos físicos, químicos, bioquímicos e físico-químicos, onde a matéria-prima pode ser proveniente de indústrias, origem vegetal ou animal, além de urbana e rural (LEAL, 2014). Desse modo, o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, 2016) classifica os fertilizantes de acordo com a matéria-prima utilizada, como pode ser observado no Quadro 1. Salientando-se que cada uma depende da disponibilidade da matéria-prima em cada região para sua produção, contribuindo com a sustentabilidade, oferecendo destino e otimizando o aproveitamento destes materiais (HWEE et al., 2018).

Quadro 1 – Classes dos fertilizantes de acordo com sua matéria-prima

Classe	Matéria-prima
A	Origem vegetal, animal ou processamento de agroindústria, onde não foi utilizado, no processo de fabricação, metais, elementos ou compostos orgânicos sintéticos potencialmente tóxicos, podendo ser utilizado de forma segura.
B	Origem industrial ou agroindústria, onde foram utilizados no processo de obtenção do fertilizante metais, elementos ou compostos orgânicos tóxicos, resultando em um produto seguro para o uso agrícola.
C	Proveniente de resíduos domiciliar, sem quantidade definida, resultando em um produto seguro para ser utilizado.
D	Proveniente do tratamento de despejos sanitários, resultando em um produto seguro para o uso em culturas.

Fonte: Adaptado MAPA (2016).

Um exemplo de fertilizante classificado como Classe B é aquele proveniente da indústria de curtumes, visto que este setor produz grande quantidade de resíduos, os quais causam impactos ambientais se não controlados, além de conter materiais orgânicos de origem animal misturado com sais inorgânicos, como Ca, S, Mg, P, K e, principalmente, N (CIAVATTA; GESSA, 1997). Entretanto, um ponto negativo do processo de curtimento da maioria das indústrias brasileiras é de que é realizado com o uso de sais de cromo, tornando seu resíduo como perigoso de Classe I, segundo a norma brasileira NBR-10004 da ABNT.

Devido a isso, a concentração do elemento em fertilizantes orgânicos derivados do curtume despertou preocupação pela possibilidade de contaminação de água, solo e

das próprias culturas em que serão aplicados (GIACOMETTI et al., 2012). Além disso, pela capacidade de interconversão entre as espécies, sendo necessário o monitoramento e quantificação (CIAVATTA et al., 2012). Desta maneira, o MAPA estabeleceu o limite máximo de contaminantes em fertilizantes orgânicos em sua Instrução Normativa DAS nº 27 de 2006 alterada pela nº 7 de 2016, dentre eles, o Cr(VI) com valor máximo permitido de  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  (MAPA, 2016).

### 3.3 TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DE Cr

Primordialmente, a determinação de metais foi desenvolvida para quantificar a concentração total em determinada amostra, porém, é insuficiente para a caracterização completa do elemento, visto que podem ocorrer sob outras espécies, o que lhes confere distintas características. Com isso, a análise de especiação química fornece informações a respeito da toxicidade, mobilidade e efeitos fisiológicos (LUND, 1990), onde é definida como a “atividade analítica de identificação e/ou medida de quantidade de uma ou mais espécies químicas individuais em uma amostra” pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (TEMPLETON et al., 2000).

Como já descrito acima, as espécies de cromo diferem-se significativamente, gerando a necessidade de seu monitoramento, tanto com relação a quantificação e identificação, quanto a separação evitando a interconversão e, devido a isso, existem dificuldades na análise do analito, entre as quais podemos citar (JÓZSEF et al., 2019):

- a) Coleta e preservação das amostras: devido ao equilíbrio de redução-oxidação das espécies de cromo, a preservação da matriz e o processo de amostragem podem interferir na estabilidade, causando interconversão, principalmente em meio ácido;
- b) Extração das espécies: é a etapa crítica para a análise de especiação, onde a natureza da amostra influencia diretamente no método escolhido para extração;
- c) Compostos (Padrões) estáveis das espécies: poucos compostos, necessários para a calibração, estão comercialmente disponíveis;
- d) Exatidão do método: devido à pouca disponibilidade de materiais de referência certificados (CRM), além de ser difícil de ter matriz similar da amostra, a exatidão é difícil de ser determinada.

Desse modo, várias técnicas analíticas com distintos sistemas de detecção e separação são descritas na literatura para a especiação de cromo. Ademais, alguns

autores dividem os métodos em categorias, como isolar a espécie de interesse e quantificar, uso de técnicas hífenadas no qual o sistema de separação está acoplado ao detector e diretamente em amostras sólidas (SÉBY et al., 2008). Dentro destas categorias, cita-se a determinação por métodos eletroanalíticos, espectrometria atômica, como o LC-ICP-MS, e a determinação espectrofotométrica, sendo a última o foco do trabalho.

### 3.3.1 Determinação espectrofotométrica

A espectrofotometria é uma das técnicas mais utilizadas em análises químicas, principalmente pelo seu baixo custo, robustez e fácil utilização. Esta é baseada na medida de absorção da radiação eletromagnética na região do visível e ultravioleta, por moléculas ou espécies químicas em meio aquoso (TEIXEIRA et al., 2006). Onde a absorbância medida pelo equipamento é diretamente proporcional à concentração do analito quando relacionado com a Lei de Beer, através da equação da curva de calibração (KASVI, 2018).

A determinação das espécies de cromo por métodos espectrofotométricos ocorre, geralmente, pela utilização de reagentes que formam moléculas absorventes da radiação eletromagnética, apresentando seletividade em determinado comprimento de onda. De acordo com o método Environmental Protection Agency (EPA) 7196 (USEPA, 1992), a determinação de Cr(VI) pode ser realizada em amostras aquosas, como em extratos de amostras sólidas e, o método EPA 3060a (USEPA, 1996) é indicado para amostras de solos, sedimentos, lodo e similares, após extração da espécie, que ocorre em meio básico (pH ~12). Ambos, consistem na reação seletiva entre Cr(VI) e 1,5 difenilcarbazida (DFC), que ocorre em meio ácido (pH ~ 2), onde ocorre a oxidação do complexante para 1,5-difenilcarbazona e o Cr(VI) é reduzido a Cr(III) (Equação 2). O produto formado é um complexo violetáceo, que absorve na região de 540-554 nm. Contudo, mesmo possuindo simplicidade e seletividade, o método pode sofrer interferências de outros elementos, como o Mo(VI), Cu(II), Fe(II), Hg(II) e V(V), que podem reagir com a 1,5-difenilcarbazida, absorvendo no mesmo comprimento de onda que 1,5-difenilcarbazona-Cr(III).





As principais desvantagens da técnica são a susceptibilidade a interferências e o alto limite de detecção ( $\text{mg L}^{-1}$ ). Em solos, ainda podem estar presentes compostos húmicos que são extraídos no processo de extração e absorvem no mesmo comprimento de onda, acarretando em medidas errôneas (PETTINE; CAPRI, 2005).

### 3.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

O preparo de amostra é uma etapa crítica na determinação do Cr(VI), pois a extração deve ocorrer de forma quantitativa sem que haja interconversão entre as espécies de cromo, assim como deve ser mantido o equilíbrio entre as espécies. Além disso, o solvente extrator deve ter compatibilidade, tanto com a técnica de detecção quanto com a de separação (HERNANDEZ et al., 2017).

Na literatura, há poucos trabalhos relacionados à especiação de cromo em fertilizantes, possivelmente pela dificuldade do preparo da amostra, por se tratar de uma matriz complexa, além da técnica de quantificação ser compatível com o método de extração. Para isso, o método EPA 3060a, método oficial dos Estados Unidos (EUA) para determinação de Cr(VI) em solo, lodo, sedimentos e materiais semelhantes, é o que mais se assemelha ao fertilizante orgânico. O procedimento consiste na extração alcalina com solução tampão de NaOH e  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , com adição de  $\text{Mg}^{2+}$ , o que evita a oxidação do Cr(III) (USEPA. 1996).

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 MATERIAIS, REAGENTES E EQUIPAMENTOS**

#### **4.1.1 Materiais diversos**

Para a realização dos ensaios foi utilizado: Balão volumétrico; Pipetadores (micropipetas de volume fixo e/ou variável; Frascos de polipropileno (vials) de 15 e 50 mL; Filtros de 0,22  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro, da Sartorius; Seringas descartáveis de 5 mL; e Bécker de vidro. Os quais são novos ou foram devidamente descontaminados com  $\text{HNO}_3$  5% (v/v) e lavados com água de alta pureza.

#### **4.1.2 Equipamentos**

Para os procedimentos experimentais foram utilizados os equipamentos listados a seguir.

- a) Espectrofotômetro Ocean Optics, modelo: USB2000;
- b) Chapa de aquecimento Marconi 239;
- c) Cromatógrafo a líquido acoplado a espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado PerkinElmer Sciex ELAN DRC II;
- d) Balança analítica Shimadzu, modelo: AY220;
- e) Forno micro-ondas da Anton Paar, modelo Multiwave Pro.

#### **4.1.3 Reagentes, soluções e amostras**

Os reagentes químicos utilizados para o preparo das soluções estão listados a seguir.

- a) Dicromato de Potássio ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ) da Merck;
- b) Hidróxido de Sódio ( $\text{NaOH}$ ) da NEON;
- c) Carbonato de Sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) da Proquímios;
- d) Carvão ativado com tamanho de partícula de 100 mesh da SigmaAldrich;
- e) Florisil da Merck;
- f) 1,5-Difenilcarbazida da Vetec Química Fina;
- g) Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) da Merck;

- h) Água deionizada ultrapura obtida pelo sistema Milli-Q 18,2 MΩ cm da Millipore;
- i) Acetona da Alphatec;
- j) As amostras utilizadas no trabalho foram fornecidas pelo Laboratório Federal de Defesa Agropecuário (LFDA), previamente moídas com diâmetro de partícula inferior a 100 μm e secas, aptas a serem utilizadas sem necessidade de tratamento prévio;
  - a. Amostra A, C, D e F) são fertilizantes orgânicos proveniente de resíduo da indústria de curtimento.

Todos os reagentes são com pureza de grau analítico (p.a.) ou maior.

## 4.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

### 4.2.1 Preparo da curva de calibração

Foi utilizado uma solução de referência estoque a 100 mg L<sup>-1</sup> de Cr(VI) preparada a partir do dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>4</sub>). A curva de calibração foi preparada a partir da diluição desta, com concentrações na faixa de 10 a 2500 μg L<sup>-1</sup>, adicionando-se 1 mL da solução extratora, 1 mL de tampão pH 2, 50 μL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1:3, 1 mL de difenilcarbazida e aferido a 10 mL. O branco da curva foi preparado da mesma forma, exceto da adição do analito. Além disso, para verificar que a reação ocorra e que seja estável, foram realizadas medições de 30 segundos até 5 minutos e a 24 horas após a mistura das soluções. Para a medida da absorbância utilizou-se uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico.

### 4.2.2 Extração e quantificação do Cr(VI)

Para tal, a solução extratora foi baseada no método EPA 3060a, onde foi utilizado-se uma solução de 0,5 M hidróxido de sódio (NaOH) e 0,28 M carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), como descrito no método, e em menores concentrações, sendo elas na relação de 0,250 M / 0,14 M e 0,125 M / 0,07 M, de NaOH / Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> respectivamente, sua relação com a massa de amostra, a temperatura de 25 a 95 °C e tempo de extração de 20 a 90 min. Todos estes testes foram feitos utilizando 100 mg da amostra A (tópico 4.2.3), 10 mL de solução extratora, pH 12, 60 min tempo e 90 °C de temperatura. Após

arrefecimento das soluções por, aproximadamente, 60 min, a mistura foi centrifugada por 10 min a 3500 rpm para ocorrer a separação dos sólidos suspensos da solução. As extrações foram feitas em banho maria utilizando frascos de polipropileno.

Após a extração, os extratos foram mantidos em repouso para arrefecimento e na sequência realizou-se a separação do sobrenadante. Para tanto, foi avaliado dois procedimentos de separação do sólido, o primeiro no qual foi utilizado uma centrífuga (3500 rpm), 5 a 10 min, e o segundo, somente o tempo de arrefecimento, sendo testado de 1 a 24 h.

Devido a possível interferência causada pela cor dos extratos, avaliou-se o efeito do carvão ativado e florisil para *clean up* dos extratos, além de avaliado a condição de pH do meio, sendo básico (condição de extração), meio ácido e após a reação do Cr(VI) com DFC e se há retenção do analito. Para isso, utilizou-se um padrão de 1 mg L<sup>-1</sup>. Além disso, avaliou-se o tempo de contato da solução com o adsorvente de 1 a 5 min e massa do adsorvente de 10 a 50 mg. O objetivo do uso destes adsorventes foi para a remoção da coloração do extrato sem que houvesse perdas do analito. Comprimentos de onda de 542 nm, 544 nm e 546 nm foram monitorados para detectar possíveis interferências de matriz.

Para a exatidão e comprovação dos resultados foi realizado a análise do material de referência certificado (CRM041-soil) com  $203 \pm 17$  mg kg<sup>-1</sup> de Cr(VI). O CRM foi submetido ao mesmo procedimento das amostras.

#### **4.2.3 Caracterização das amostras**

Foi necessário realizar a caracterização química das amostras para avaliar se algum outro elemento poderia estar presente que possa a ser um possível interferente na reação da DFC com o Cr(VI). Foram pesados, com exatidão, em torno de 200 mg da amostra em triplicata e transferida para o frasco de decomposição. À cada amostra foram adicionados 5 mL de HNO<sub>3</sub> 14,4 mol L<sup>-1</sup> e os frascos foram devidamente fechados e submetidos ao aquecimento de acordo com o programa informado na Tabela 1, sugerido pelo fabricante do sistema.

Tabela 1. Programa de aquecimento utilizado para decomposição de fertilizante orgânico.

<b>Temperatura, °C</b>	<b>Pressão, bar</b>	<b>Rampa, Min</b>	<b>Tempo de aquecimento, min</b>	<b>Potência, W</b>
150	40	5	5	900
190	40	5	15	900
230	40	5	30	900
50	40	10	-	0

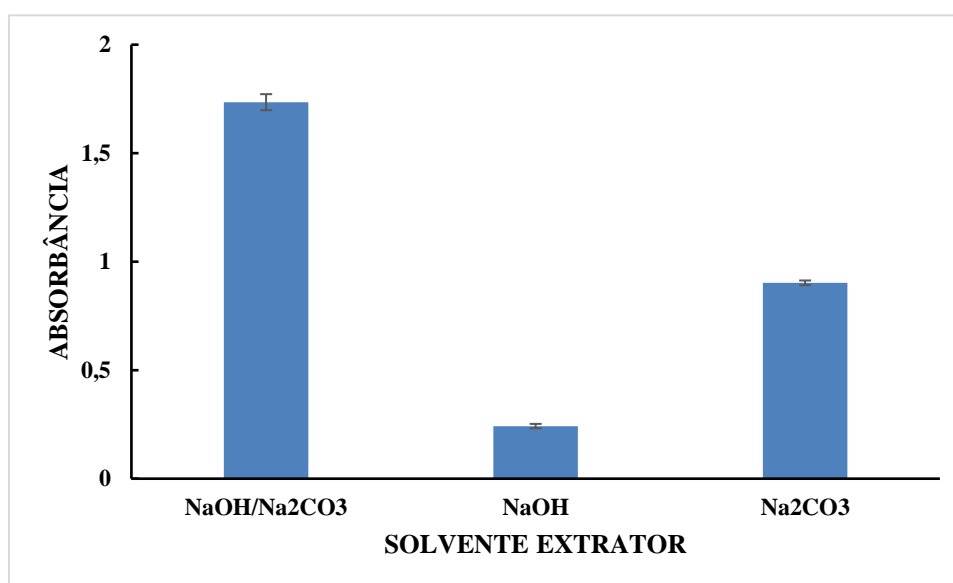
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico, serão apresentados e discutidos os resultados da extração, *clean up* e quantificação do Cr(VI) das amostras de fertilizantes orgânicos.

### 5.1 PARÂMETROS OTIMIZADOS

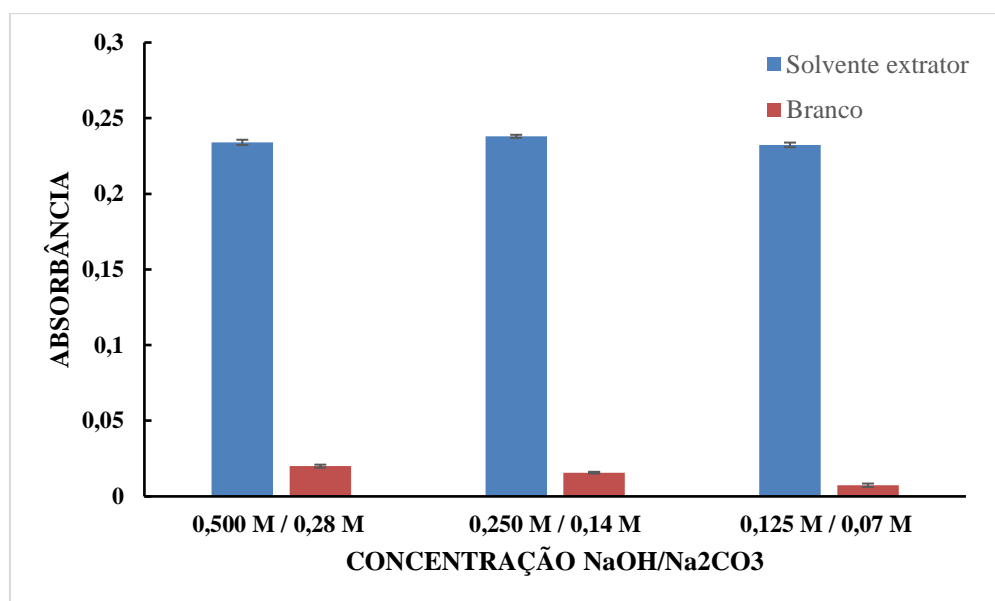
A otimização dos parâmetros devem ser realizados para que as condições de extração sejam compatíveis com o método de quantificação, separação das espécies de Cr(III) e Cr(VI) e para que não ocorra interconversão. Como ponto de partida foi testado o método da EPA 3060a que utiliza a solução extratora de NaOH 0,5M e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,28M. A eficiência da extração destes extratores e suas misturas é mostrada nas Figuras 2. Na Figura 3, é apresentado a eficiência da extração frente a variação da concentração do solvente extrator e o valor de branco.

Figura 2. Eficiência da extração de Cr(VI) com diferentes soluções extratoras.



Fonte: Autor (2023).

Figura 3. Eficiência de extração de Cr(VI) em diferentes concentrações do extrator e seus respectivos brancos.

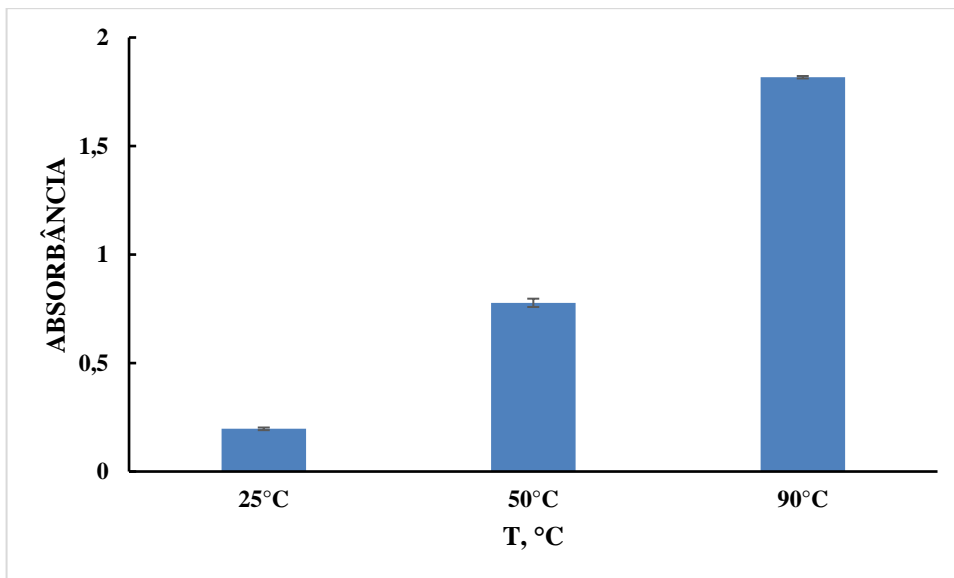


Fonte: Autor (2023).

Como pode ser verificado na Figura 2, maior eficiência de extração foi obtida com a solução mista de NaOH 0,5M e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,28M. Estudos subsequentes foram feitas somente utilizando esta mistura. Entretanto, experimentos foram feitos para verificar a influência da concentração da mistura NaOH e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> na extração do cromo. Como pode ser visualizado na Figura 3, a solução que contém a mistura dos reagentes e concentração de 0,125 M de NaOH/0,07 M é a que levou a um menor valor de branco, sendo a eficiência de extração de Cr(VI) similar as demais condições testadas. Sendo assim, essa concentração foi a selecionada para a execução dos processos posteriores. Ressalta-se que menores concentrações do extrator facilitam o ajuste de pH do meio reacional e levam a menores valores do branco, afetando diretamente nos valores de limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), pois são diretamente proporcionais a média quantificada de 10 brancos (JUDGE, 2021). Isso implica que o método pode ser aplicado para a determinação de menores concentrações do analito, o que é importante para que o mesmo possa ser aplicado atendendo as normas do MAPA.

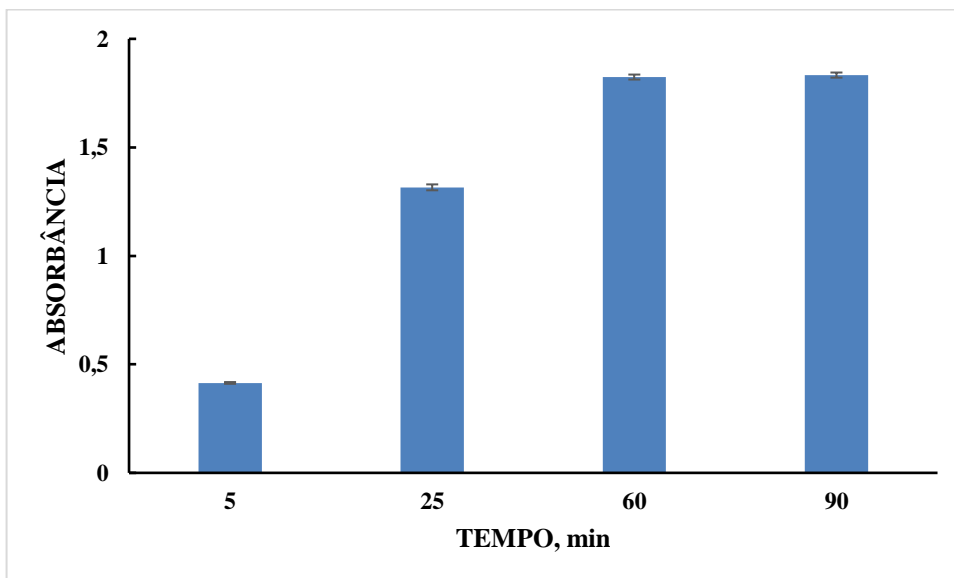
Após a definição desses parâmetros, efetuou-se a avaliação da temperatura e o tempo de extração, mantendo-se ainda a massa e volume do extrator. Nas Figuras 4 e 5 estão representados a eficiência da extração de Cr(VI) de acordo com a temperatura e o tempo, respectivamente.

Figura 4. Efeito da temperatura na extração de Cr(VI).



Fonte: Autor (2023)

Figura 5. Efeito do tempo na extração do Cr(VI).



Fonte: Autor (2023).

A partir das figuras 4 e 5, foi possível identificar que a extração do analito aumenta significativamente com o aumento da temperatura, visto que ocorre o acréscimo de solubilidade do composto no meio pela ampliação da agitação das moléculas, resultando na permanência do Cr(VI) em solução. Da mesma forma, o aumento do tempo de contato da amostra com a solução extratora, incrementa a



extração do analito. Desta forma, a máxima extração ocorre quando a solução está a 90 °C e o tempo é de 60 min.

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados de Cr(VI) extraído na amostra A, utilizando diferentes valores de massa em diferentes valores de massa e mantendo o volume de extrator fixo em 10 mL. Além da amostra, o material de referência certificado (CRM041 - soil), que contém  $203 \pm 17 \text{ mg kg}^{-1}$  de Cr(VI), também foi submetido às mesmas condições.

Tabela 2 - Concentração de Cr(VI) na amostra A, obtidos a partir da extração de diferentes massas da amostra, e do CRM.

Massa	Cr(VI) ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Relação massa: volume
150 mg	< LOQ	0,0150
50 mg	$233 \pm 2,3$	0,0050
25 mg	$674 \pm 87$	0,0025
10 mg	$1226 \pm 72$	0,0010
5 mg	< LOQ	0,0005
25 mg CRM <sup>1</sup>	$203 \pm 7$	0,0025
10 mg CRM <sup>1</sup>	$205 \pm 10$	0,0010

<sup>1</sup>Material de Referência Certificado

LOQ:  $1,8 \text{ mg kg}^{-1}$

Fonte: Autor (2023).

Apesar da extração ser eficiente tanto para 10 mg quanto para 25 mg para o CRM, na amostra a extração de Cr(VI) diminui com o aumento da massa da amostra, provavelmente devido a interferência da matriz da amostra na reação Cr(VI)-DFC. Outra possibilidade para a diminuição da extração de Cr(VI) pode ser devido a amostra passar por processos de autoclavagem na produção do fertilizante a partir do resíduo de curtume, o que dificulta a extração do analito. Portanto, a relação ideal de massa: volume de extrator foi de 0,0010, o qual extrai quantitativamente o Cr(VI) presente na amostra. Ressalta-se ainda que para a relação de 0,0005 a concentração do analito fica inferior ao LOQ, enquanto que em concentrações mais elevadas a extração é afetada pela matriz, possivelmente as condições de autoclavagem em que são submetidas para a transformação do resíduo em fertilizante orgânico (RIBEIRO; MELLO, 2009)

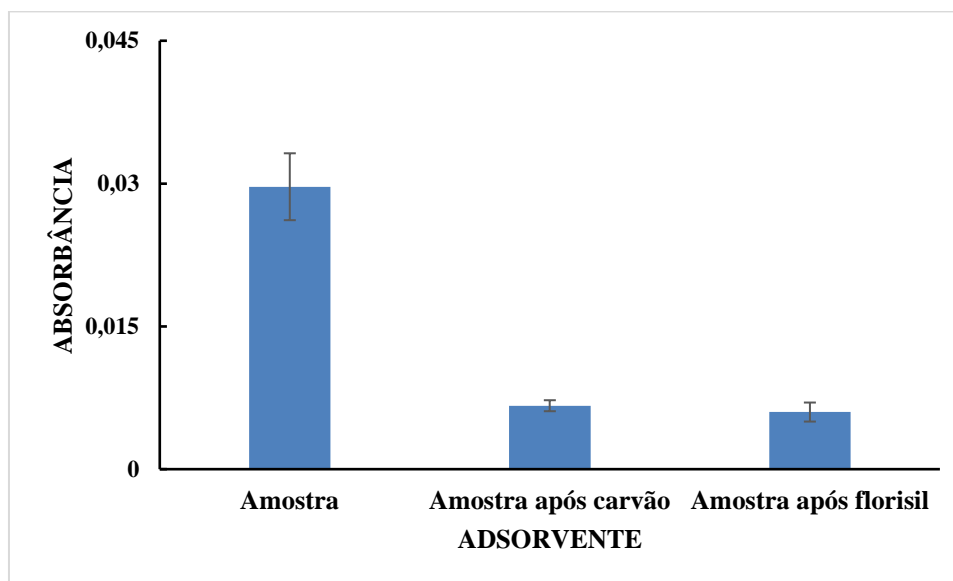
Para eliminar etapas e consequentemente acelerar a quantificação do analito, avaliou-se a decantação por gravidade durante o tempo de arrefecimento, constatando

que, não há diferença em utilizar ou não a centrifugação para realizar a retirada do sobrenadante.

Outro aspecto importante é que, após a extração, os extratos tem leve coloração a qual interfere diretamente na quantificação do analito por absorver a radiação no mesmo comprimento de onda em que é realizado a determinação de cromo, devido acontecer pela presença de compostos orgânicos e/ ou elementos que conferem coloração esverdeada, que absorve em regiões próximas a 542 nm . A fim de solucionar esse problema, foram testados o florissil e carvão ativado como adsorventes para a remoção da cor, sem que houvesse retenção do analito, o que implicaria em dados errôneos de Cr(VI).

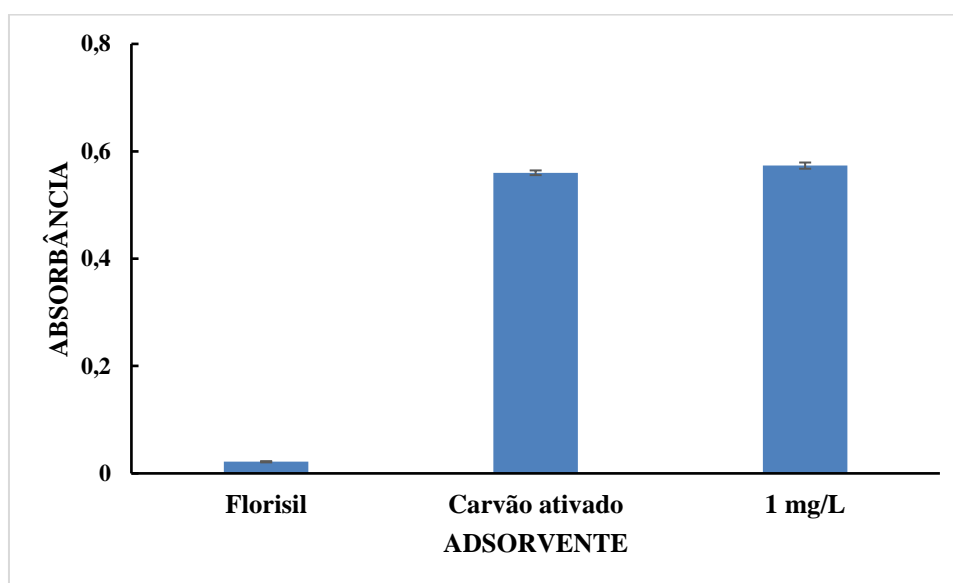
Na Figura 6 é possível observar que os dois adsorventes são eficazes na remoção da coloração. Já na Figura 7 está mostrado o efeito do florissil e do carvão ativado na retenção de Cr(VI) presente na solução de referência de 1 mg L<sup>-1</sup> em pH 12, ou seja, na mesma condição de extração.

Figura 6. Efeito do adsorvente na remoção da coloração inicial dos extratos de fertilizante



Fonte: Autor (2023).

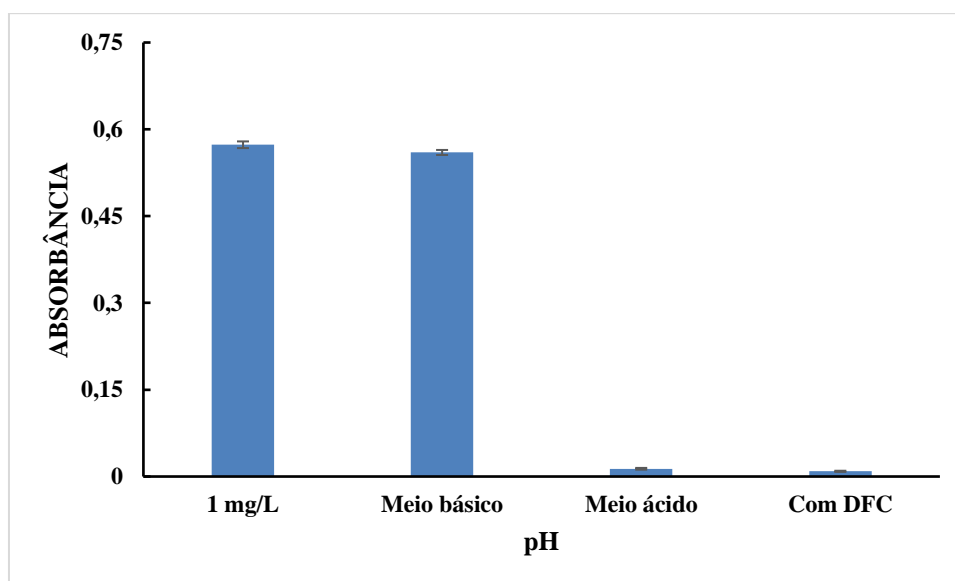
Figura 7. Retenção de Cr(VI) pelos adsorventes



Fonte: Autor (2023).

Como pode ser observado na Figura 7, com o Florisil houve retenção de Cr(VI) próximo a 97%, devido as interações entre o silicato e o cromato, por ambos serem polares (LLASERA, 2009). Entretanto, com o carvão ativado obteve-se recuperação de 97 a 99% quando comparado com a absorvância de uma solução a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de Cr(VI). Portanto, estabeleceu-se que os extratos passariam por uma etapa de remoção da coloração com o carvão ativado. Porém, a condição de pH do meio afeta diretamente na retenção do analito. Em meio básico, com pH em torno de 12, ou seja, na mesma condição em que é realizada a extração, não ocorre a retenção de Cr(VI) pelo carvão ativado. Em meio ácido, com pH 2, ou seja, na mesma condição em que é realizada a reação do analito com a DFC e após a reação do Cr(VI) com a DFC, com formação do complexo DFC-Cr, foi observada a retenção do analito. Os resultados podem ser visualizados na Figura 8.

Figura 8. Efeito do pH da solução contendo Cr(VI) e do complexo DFC-Cr(VI) na adsorção do analito em carvão ativado.



Fonte: Autor (2023).

Ainda, a massa de carvão ativado e o tempo de contato com o extrato não acarretam em divergências no efeito de remoção da coloração. Portanto, fixou-se a massa de aproximadamente 10 mg em ação por 1 min.

Portanto, as condições finais de extração e quantificação foram definidas da seguinte forma: solução extratora de NaOH/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> nas concentrações de 0,125 M e 0,07 M, respectivamente, temperatura de extração a 90 °C, tempo de 60 min, arrefecimento por 60 min, separação do sobrenadante por decantação, adição de 10 mg de carvão ativado mantido em contato por 1 min, filtração do adsorvente com filtro de 0,22 μm e posterior determinação do complexo DFC-Cr(VI) a 542 nm.

## 5.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Inicialmente foi feita a determinação de diversos elementos nas amostras, cuja finalidade é verificar se estão presentes em concentração que possam interferir na reação entre a DFC e Cr(VI). Verificou-se que há elementos presentes no fertilizante em concentrações da ordem de 15 mg g<sup>-1</sup> de Fe, Mg e Ca, 20 mg g<sup>-1</sup> de S, 40 mg g<sup>-1</sup> de P e 50 mg g<sup>-1</sup> de K. Ressalta-se que, nessas condições, estes elementos não interferem na quantificação do Cr(VI), pois estes metais formam complexos com coloração distintas, e portanto, absorvem em outros comprimentos de onda (ZUBAY, 1983).

O método foi aplicado para a quantificação de Cr(VI) em quatro fertilizantes orgânicos (A, C, D e F), bem como o CRM para comprovação da exatidão. A concentração de Cr(VI) em cada uma das amostras é apresentada na Tabela 3, onde é possível observar que apenas a amostra F está com concentração de Cr(VI) abaixo do limite estabelecido pelo MAPA, o qual é de 2 mg kg<sup>-1</sup>. Os demais fertilizantes tem valores de Cr(VI) superior a esse limite.

A exatidão do método é comprovada pela análise do CRM 041, como citado acima, onde pode se observar que a boa concordância, ao nível de confiança de 95% (teste t), com o valor de certificado, que é de 203 ± 17 mg kg<sup>-1</sup> de Cr(VI).

Tabela 3 – Concentração de Cr(VI) nos fertilizantes analisados.

Amostra	Cr(VI), mg kg <sup>-1</sup>
A	1226 ± 72
C	3,31 ± 0,67
D	8,12 ± 1,3
F	1,85 ± 0,22
CRM 041	205 ± 10

Fonte: Autor (2023).

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados de acordo com a recomendação da IUPAC, os quais estão mostrados nas equações (3) e (4), sendo obtidos os valores de 0,4 mg kg<sup>-1</sup> para LOD e 1,3 mg kg<sup>-1</sup> para LOQ.

$$\text{LOD} = B + 3 \sigma \quad (3)$$

$$\text{LOQ} = B + 10 \sigma \quad (4)$$

Onde:

B = valor do branco da amostra

$\sigma$  = desvio padrão, considerando o desvio padrão de 10 determinações do branco da amostra.

## 6 CONCLUSÃO

O monitoramento das espécies de cromo, especialmente o hexavalente, em fertilizantes orgânicos provenientes dos resíduos de curtume é de suma importância devido a sua ação carcinogênica e toxicidade ambiental. Visto isso, nesse trabalho foi proposto um método espectrofotométrico para determinar as concentrações dessa espécie de cromo.

O método espectrofotométrico consiste na extração do Cr(VI) em meio básico com solução de NaOH/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> nas concentrações de 0,125 e 0,07 mol L<sup>-1</sup>, respectivamente, *clean up* do extrato com carvão ativado e determinação espectrofotométrica do cromo pelo complexo Cr-DFC. Além disso, o método tem algumas vantagens, como a utilização de instrumentação e reagentes de baixo custo ainda, é um método exato e preciso, o qual pode ser aplicado a análises de rotina.

## REFERÊNCIAS

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. Toxicological Profile for Chromium, US Department of Health and Human Services. **Public Health Service**: Atlanta, USA, 2012.

ANDERSON, R. A.; KOZLOVSKY, A.S. Chromium intake, absorption and excretion of subjects consuming self-selected diets. **The American Journal of Clinical Nutrition**: *sine loco*, 41 v., 6 n., 1177-1183 p., 1985.

BRASIL. Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980. Dispõe sobre a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas, destinados à agricultura, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 dez. 1980.

CIAVATTA, C. et al. Chromium-Containing Organic Fertilizers from Tanned Hides and Skins: A Review on Chemical, Environmental, Agronomical and Legislative Aspects. **Journal of Environmental Protection**: *sine loco*, 3 v., 11 n., 1532-1541 p., 2012.

GIACOMETTI, C. et al. Soil Application of Tannery Land Plaster: Effects on Nitrogen Mineralization and Soil Biochemical Properties. **Applied and Environmental Soil Science**: *sine loco*, 2012.

HERNANDEZ, F. et al. Optimization of selective alkaline extraction for Cr(VI) determination in dairy and cereal products by HPIC–ICPMS using an experimental design. **Food Chemistry**: *sine loco*, 214 v., 339–346 p., 2017.

HWEE, L. et al. Sustainable approach to biotransform industrial sludge into organic fertilizer via vermicomposting: a mini-review. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**: *sine loco*, 93 v., 4 n., 925-935 p., 2018.

JÓZSEF, P. et al. A comparison study of analytical performance of chromium speciation methods. **Microchemical Journal**: *sine loco*, 149 v., 1039-1058 p., 2019.

KASVI. Espectrofotometria: Análise da concentração de soluções. Paraná, 16 fev. 2017. Disponível em: < <https://kasvi.com.br/espectrofotometria-analise-concentracao-solucoes/#:~:text=A%20espectrofotometria%20C3%A9%20um%20m%C3%A9todo,amplitude%20de%20comprimento%20de%20onda>>. Acesso em: 15 dez. de 2022.

KOTÁS, J.; STASICKA, Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. **Environmental Pollution**: *sine loco*, 107 v., 3 n., 263-283 p., 2000.

KRÜGER, O. et al. Determination of chromium (VI) in primary and secondary fertilizer and their respective precursors. **Chemosphere**: *sine loco*, 182 v., 48-53 p., 2017.

LLASERA, M. P.G.; REYES-REYES, M. L. A validated matrix solid-phase dispersion method for the extraction of organophosphorus pesticides from bovine samples. *Food Chemistry*, 114 v., 1510-1516, 2009.

LEAL, M. A. Produção de fertilizante orgânico de origem 100% vegetal por meio da compostagem. **Embrapa Agrobiologia: sine loco**, 2014. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1865056/artigo-producao-de-fertilizante-organico-de-origem-100-vegetal-por-meio-da-compostagem>>. Acesso em: 30 dez. 2022.

LUND, W. Speciation analysis - why and how?. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry: sine loco**, 337 v., 557- 564 p., 1990.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa SDA nº 7, 12 abr. 2016.

NAMIEŚNIK, J.; RABAJCZYK, A. Speciation Analysis of Chromium in Environmental Samples. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology: sine loco**, 42 v., 4 n., 327-377 p., 2012.

NBR 10004:2004 – Resíduos sólidos - Classificação

OLIVEIRA, D. Q. L. et al. Utilização de resíduos da indústria de couro como fonte nitrogenada para o capim-elefante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo: sine loco**, 32 v., 1 n., 2008.

PETTINE, M.; CAPRI, S. Digestion treatments and risks of Cr(III)–Cr(VI) interconversions during Cr(VI) determination in soils and sediments: a review. **Analytica Chimica Acta: sine loco**, 540 v., 2 n., 231-238 p., 2005.

RIBEIRO, E. M. P.; MELLO, P. B. Título do trabalho. Produto e Produção: Local ou Sine loco, 1 n., 10 v., 85-91 p., 2009.

SANTOS, A. M. M. M. et al. **Panorama do setor de couro no Brasil**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, 16 n., 57-84 p., 2002.

SÉBY, F. et al. Development of analytical procedures for the determination of hexavalent chromium in corrosion prevention coatings used in the automotive industry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry: sine loco**, 391 v., 2 n., 587-597 p., 2008.

SELBACH, P.A.; TEDESCO, M.J; GIANELLO, C.; CABALLET, L.E. Descarte e biodegradação de lodos de curtume no solo. **Revista do Couro, sine loco**, 4 v., 51-62 p., 1991.

TEIXEIRA, L. S. G. et al. Determinação espectrofotométrica simultânea de cobre e ferro em álcool etílico combustível com reagentes derivados da ferroína. **Química Nova: sine loco**, 29 v., 4 n., 2006.

TEMPLETON, D. M. et al. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitons structural aspects, and methodological



approaches (IUPAC Recommendations 2000). **Pure and Applied Chemistry: *sine loco***, 72 v., 8 n., 1453-1470 p., 2000.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, Alkaline digestion of hexavalent chromium, Method 3060a. *In: Test Methods for Evaluating Solid Waste-Physical/Chemical Methods*, **Government Printing Office**: Washington, EUA, 1996.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Chromium, Hexavalent (Colorimetric). Method 7196A. *In: Test Methods for Evaluating Solid Waste-Physical/ Chemical Methods*, **Government Printing Office**: Washington, EUA, 1996.

WANG, H.J. et al. Using ion-pair reversed-phase HPLC ICP-MS to simultaneously determine Cr(III) and Cr(VI) in urine of chromate workers. **Talanta: *sine loco***, 81 v., 1856-1860 p., 2010.

ZAYED, A. M.; Terry, N. Chromium in the Environment: Factors Affecting Biological Remediation. **Plant and Soil: *sine loco***, 249 v., 139-156 p., 2003.

ZUBAY, G. Biochemistry. Massachusetts: Addison-Wesley, Reading, p. 51, 1983