

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

Pedro Osmar de Almeida Cardoso

Dispositivos analíticos de baixo custo baseados em
C⁴D para a determinação de macronutrientes agrícolas

SÃO CARLOS – SP

2021

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

Pedro Osmar de Almeida Cardoso

Dispositivos analíticos de baixo custo baseados em
C⁴D para a determinação de macronutrientes agrícolas

Trabalho de conclusão de curso submetido como
requisito para obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia, pela Universidade Federal de São
Carlos.

Orientadora: Prof. Dra. Laís Canniatti Brazaca

Co-orientadora: Prof. Dra. Fernanda de Freitas Anibal

SÃO CARLOS – SP

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha mãe, Ilva Maria, por me dar vida, não somente ao nascimento, mas todos os dias; por me mostrar o que é amor incondicional e força;

Ao meu vô, Antônio Carlos, por ser meu herói, meu maior exemplo, por me mostrar o que é generosidade e sabedoria.

Aos meus irmãos, José, Luiz e Carlos, que me mostram todo dia o que é crescer junto, em família, estar protegido e ter sempre um lar, apesar dos conflitos. Também, ao restante da família: meus tios Carlos, Midori, Ana Lúcia, Toshie e Beto, minha vó Leili, meus primos Eduardo e Arthur, por fazerem parte de quem sou hoje.

Ao meu falecido pai, José Osmar, pelo amor, lições, e por todas as memórias.

À minha orientadora, Prof. Dra. Laís Canniatti Brazaca, por ter sido sempre um grande modelo de pesquisadora, e acima de tudo, de pessoa; por ter me ajudado de braços abertos nessa jornada, e fortalecido meu aprendizado como cientista.

À Prof. Dra. Fernanda de Freitas Anibal, por ter tão abertamente me recebido como aluno de co-orientação.

Ao grupo BioMics, todos os alunos integrantes e principalmente ao Prof. Dr. Emanuel Carrilho, por ter aberto as portas do grupo para mim e me recebido, por todos os ensinamentos, experiências e oportunidades. Também, a Universidade de São Paulo, por possibilitar que isso acontecesse, e ao Victor, quem me mostrou esse caminho.

Aos meus irmãos de república 7 Copos, Alam, Leonardo, Lucas, Paulo, Victor e Vinícius, por dividirem o mesmo lar, me ensinarem sobre a vida todos os dias, por toda a parceria e incontáveis histórias. Também, a todos os agregados desta família, Bela, Emily, Mavi, Ana, Belle, Marlon, Abel, Iva, Lais, ADP, Franciana e todos os outros, pela amizade e momentos bons.

À minha namorada, Mariana Grando, por me dar confiança, me apoiar, me incentivar, me cobrar, e por me mostrar como ser melhor todos os dias.

Ao Herisson Oliveira, meu parceiro da vida, por me acolher e me ajudar em todos os momentos difíceis da graduação.

Aos meus irmãos do colégio Arbos, Guilherme, Rodrigo, Murylo, Raphael, Ian, Thiago, Gustavo, que apesar da distância e falta de convívio, permaneceram sempre nos meus pensamentos e saudades.

Aos meus irmãos do Quarteto, Nicolas, Victoria e Daniela, por infinitos momentos de carinho, por serem meu porto seguro e donos de algumas de minhas melhores memórias.

A UFSCar e à cidade de São Carlos, por terem me ensinado tanto, e por me proporcionarem alguns dos melhores anos da minha vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro em meu projeto de pesquisa.

À Deus, por tudo.

E a mim, por não ter desistido de mim.

RESUMO

A atividade agrícola exerce papel de crucial relevância na malha socioeconômica brasileira. O país, líder em diversos setores da agroindústria mundial, teve um aumento gigantesco de produtividade no século XX, muito em decorrência da implementação crescente de fertilizantes agrícolas. Estes insumos, entretanto, se usados de maneira incorreta ou desmedida, podem causar grandes malefícios à saúde humana. Análises de solo para a quantificação de macronutrientes de interesse agrícola, fundamental para a adequação de estratégias de fertilização, são tradicionalmente caras, demoradas e pouco acessíveis. Portanto, faz-se pertinente o uso de dispositivos portáteis, baratos e de rápida resposta, para a realização de tais análises. A Detecção Condutométrica sem Contato Acoplada Capacitivamente, ou C⁴D, é um método de detecção universal, prático e versátil, empregado com sucesso na construção destes dispositivos. Objetivou-se, com este trabalho, a utilização de eletrodos metálicos em vidro, construídos por técnicas baratas e acessíveis, para a detecção em C⁴D dos macronutrientes de interesse agrícola fosfato, potássio e amônio (NPK). Para a quantificação individual destes íons em mistura, foram utilizados os reagentes complexantes óxido de magnésio (MgO) e éter 18-coroa-6. Foram produzidas curvas analíticas para a calibração do eletrodo com cada íon individualmente, sendo que todas apresentaram um aumento linear da condutividade com a concentração destes com um coeficiente de determinação (R^2) $\geq 0,992$. Foram aferidos parâmetros de qualidade da medição como reprodutibilidade (>96,0%), repetibilidade (>99,3%), limite de detecção e quantificação, que mostraram a capacidade do eletrodo de determinar analitos na ordem de poucos $\mu\text{mol L}^{-1}$. Foram realizados diversos testes utilizando combinações dos íons NPK, em mistura e isoladamente, com os reagentes complexantes MgO e coroa. Esses testes, apesar de inconcluídos, apresentam perspectivas otimistas, que devem ser futuramente investigadas para adequação metodológica da detecção. Como resultado, espera-se desenvolver um dispositivo de detecção de baixo custo e produção acessível, capaz de quantificar macronutrientes de interesse agrícola com boa sensibilidade, rapidez e praticidade.

Palavras-chave: NPK, quantificação, C⁴D, MgO, 18-coroa-6.

Sumário

1. Introdução	8
1.1 Agricultura Brasileira: uma contextualização histórica e atual.....	8
1.2 Análises de solo e o uso de fertilizantes	9
1.3 Miniaturização de dispositivos analíticos.....	12
1.4 Sensores Químicos	13
1.4.1 <i>Detectores Elétricos e Detecção Condutométrica</i>	14
1.5 Detecção Condutométrica Sem Contato Acoplada Capacitivamente (C ⁴ D).	15
1.5.1 <i>Descrição</i>	15
1.5.2 <i>Estrutura e funcionamento</i>	16
1.5.3 <i>Construção de dispositivos analíticos em C⁴D</i>	17
1.5.4 <i>Método Alternativo para a produção de detectores condutométricos</i>	19
1.5.5 <i>Aplicações</i>	20
1.5.6 <i>Detecção C⁴D para o uso de fertilizantes</i>	20
2. Objetivos	24
2.1 Objetivos específicos	24
3. Materiais e Métodos	25
3.1 Fabricação dos eletrodos	25
3.2 Experimentos em C ⁴ D.....	25
3.2.1 <i>Setup Experimental</i>	25
3.2.2 <i>Curvas Analíticas</i>	28
3.2.3 <i>Repetibilidade</i>	28
3.2.4 <i>Reprodutibilidade</i>	28
3.2.5 <i>Limite de Detecção e Limite Quantificação</i>	29
3.2.6 <i>Testes de misturas dos íons com complexantes éter 18-coroa-6 e MgO</i>	29
3.2.7 <i>Monitorando Amplitude e Frequência: protocolo alternativo para detecção individualizada de NPK</i>	30
3.3 Tratamento e análise de dados.....	30

4.	Resultados	33
4.1	Produção de curvas analíticas para os íons fosfato, potássio e amônio	33
4.1.1	<i>Fosfato</i>	33
4.1.2	<i>Potássio</i>	34
4.1.3	<i>Amônio</i>	35
4.2	Repetibilidade, Reprodutibilidade, LOD e LOQ	37
4.2.1	<i>Repetibilidade</i>	37
4.2.2	<i>Reprodutibilidade</i>	38
4.2.3	<i>Limites de Detecção e Quantificação</i>	38
4.1	Determinação de misturas dos íons com complexantes éter 18-coroa-6 e MgO	40
4.1.1	<i>Resultados iniciais: testando adequação do protocolo</i>	40
4.1.2	<i>Fosfato, potássio e amônio em diferentes concentrações das curvas analíticas</i>	42
4.1.3	<i>MgO</i>	43
4.1.4	<i>Éter 18-coroa-6</i>	44
4.1.5	<i>NPK e coroa: avaliando ponto de turnover da complexação</i>	47
4.2	Monitoramento de parâmetros: Amplitude e Frequência.....	49
5.	Conclusões	51
6.	Perspectivas Futuras	52
7.	Referências	53

1. Introdução

1.1 Agricultura Brasileira: uma contextualização histórica e atual

O Brasil é, historicamente, um país com raízes fortemente entrelaçadas à produção e comercialização de bens agrícolas. Sua trajetória foi, desde cedo, marcada pelo desenvolvimento agropecuário, sobretudo extrativista (REIFSCHNEIDER et al., 2010). Os colonizadores que aqui se instalaram, iniciaram uma cultura de produção completamente voltada para a exportação de monoculturas, aumentando os lucros dos grandes produtores (PALAVRO, 2014)(NASCIMENTO, 2020). Assim, a exploração agrária do solo brasileiro foi aos poucos estimulando a criação de uma vocação agrícola no país, resultando, hoje, em uma das maiores potências mundiais neste setor.

Uma perspectiva recente demonstra o impacto gigantesco que a atividade agrária tem sob a economia brasileira: mesmo no ano de 2020, que apresentou um cenário inusitado e economicamente desafiador, o setor agrário do país conseguiu gerar frutos positivos: um aumento de cerca de 1,5% no PIB do agronegócio, que já havia fechado em alta de 21,4% do PIB nacional (cerca de 1,55 trilhão de reais) no ano anterior (CNA, 2020)(CONJUNTURA, 2021)(CEPEA, 2021). O saldo da balança comercial brasileira claramente aponta que os superávits do setor agropecuário, que compõem a maior parcela de exportações do país, tem sido fundamentais para quitar os déficits gerados em outros setores de sua economia, e criar um cenário positivo da balança econômica (GOVERNO DO BRASIL, 2021).

O crescimento do setor agrário no Brasil está intrinsecamente relacionado ao movimento internacional do uso de fertilizantes e insumos agrícolas, iniciado na metade do século XX (TEIXEIRA, 2005)(KHUSH, 1999). Durante esse período, o que se observou foi um crescimento sem precedentes de produtividade no setor agropecuário, principalmente por conta do desenvolvimento de tecnologias agrícolas, como máquinas e tratores a combustão, organismos geneticamente modificados, fertilizantes, pesticidas e outros insumos, criando um ambiente rural de altíssimo rendimento (NASCIMENTO, 2020)(KHUSH, 1999)(EVENSON; GOLLIN, 2003). Estima-se que, dentre os anos de 1975 e 2017, a produção de grãos no país, principalmente arroz, milho, soja, feijão e trigo, aumentou cerca de seis vezes, com apenas o dobro de terras cultiváveis (EMBRAPA, 2018).

O uso desmedido de fertilizantes é, entretanto, motivo de grande preocupação nos setores de saúde humana e sustentabilidade. Por exemplo, dentre os 150 fertilizantes disponíveis para a lavoura de soja no Brasil – uma das maiores e mais importantes do país nos anos recentes, e uma das que mais utilizam desse recurso – 35 são banidas na União Europeia por serem cancerígenas e afetarem diversos tecidos humanos (ROCHA, 2019). No que diz respeito ao controle ambiental e de biodiversidade, por exemplo, há muito se conhece o impacto de fertilizantes na contaminação de lençóis freáticos e eutrofização de corpos d'água (KAISER, 2001)(HODGKIN; HAMILTON, 1993), na queda de populações de insetos polinizadores (LIMA et al., 2016), e seu efeito na alteração de biomassa e composição de comunidades de microrganismos do solo (GEISSELER; SCOW, 2014).

Tendo em mente a ainda crescente demanda mundial por alimentos, acompanhando o crescimento populacional e distribuição demográfica de fome e má-nutrição (ROSER; RITCHIE; ORTIZ-OSPINA, 2019) é preciso reforçar a necessidade de se estabelecer uma quantificação responsável quanto ao uso de fertilizantes no país. A análise quantitativa da aplicação e uso destes insumos se mostra fundamental para conciliar a boa produtividade de alimentos, com o consumo responsável e sustentabilidade, aumentando-se a qualidade de vida humana-ambiental, e gerando um ambiente agrícola de maior precisão (KOPITTKE et al., 2019).

1.2 Análises de solo e o uso de fertilizantes

Fertilizantes nada mais são do que suplementos nutricionais para o solo, que criam condições mais favoráveis de crescimento para o plantio, aumentando sua produtividade, ou até ampliando o portfólio de culturas que podem ser plantadas em um determinado solo. Isso porque podem, agora, serem ali suplementados nutrientes essenciais, ou simplesmente na quantidade adequada, para o crescimento de novas culturas, por vezes não endêmicas (MILLER, 2005).

Plantas necessitam, basicamente, de 17 nutrientes essenciais para seu crescimento, sendo 14 deles minerais, e 3 não minerais (Carbono, Hidrogênio e Oxigênio). Os nutrientes minerais podem ser agrupados em duas categorias: macronutrientes, que por sua vez podem ser distinguidos em primários (N, P, K) e secundários (Ca, Mg, S), e micronutrientes (Cl, Fe, B, Mn, Zn, Cu, Mo e Ni), que se diferem pela quantidade relativa em que são exigidos pela planta (CASARIN; STIPP, 2013).

O perfil nutricional necessário para o crescimento da cultura, bem como a composição mineral do solo onde será cultivada, são os fatores primários considerados para o desenvolvimento da estratégia de fertilização do plantio. Grande parte dos fertilizantes comuns são especialmente focados na suplementação de macronutrientes primários, ou seja, nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), que são requeridos em grandes quantidades em basicamente quaisquer tipos de cultivo, e, portanto, são fatores limitantes para seu crescimento e rendimento. Especialmente em solo brasileiro, particularmente pobre em potássio e fósforo, esta abordagem de fertilização se faz bastante pertinente (NASCIMENTO; LAPIDO-LOUREIRO, 2004).

Além disso, outra fundamental questão deve ser apresentada: a disponibilidade química destes nutrientes em solo, que diretamente afeta a capacidade de seu aproveitamento pela cultura, e muitas vezes implicam necessidade de fertilização. Sabidamente, a disponibilidade de fósforo (na forma de fosfato inorgânico, P_i) é altamente variável na grande maioria dos solos, e está diretamente ligada à recorrente baixa fertilidade do cultivo em regiões tropicais e subtropicais, sobretudo em solos mais ácidos. O potássio sofre da mesma problemática: apesar de ser relativamente abundante em basicamente quaisquer tipos de solo, estima-se que apenas 1 a 2% deste esteja biologicamente disponível para as plantas (na forma de cátion, K^+) (HOSSAIN et al., 2017).

O balanço e disponibilidade de nitrogênio no solo é mais delicado. Plantas essencialmente podem absorver este elemento na forma de compostos nitrogenados inorgânicos, nitrato (NO_3), mais abundante, e amônio (NH_4^+), sendo a quantidade proporcional destes altamente variável, a depender do tipo de solo. Por ser um produto do processo de nitrificação da amônia por bactérias aeróbicas no solo, a disponibilidade de nitrato é elevada em solos mais aerados (maior presença de O_2). Do contrário, em solos alagados, pantanosos ou de pH mais baixo, a presença de amônio é mais acentuada, justamente por um acúmulo originado da queda do processo de nitrificação (XU; FAN; MILLER, 2012). O balanço de nitrato/amônio para o aproveitamento de nitrogênio pelas plantas depende de uma série de outros fatores físicos e ambientais, e podem estar diretamente relacionadas à produtividade da plantação.

Contudo, uma prática frequentemente observada é a combinação de fertilizantes diversos, em quantidades desmedidas, ou em locais inadequados, com o

intuito desprezioso de garantir um ambiente mais nutritivo e completo. O problema do balanço na utilização destes recursos pode ser, então, compreendido: é absolutamente fundamental que se conheça o perfil nutricional já existente no solo, para que então se adequem a natureza e quantidade dos fertilizantes a serem utilizados. Assim, é possível garantir o uso desses insumos de modo sítio-específico e com taxas variáveis de aplicação (LOBSEY; ROSSEL; MCBRATNEY, 2010).

Conhecimentos sobre a composição do solo são adquiridos através de análises, quantitativas e qualitativas, que servem de base para guiar o produtor rural no uso de fertilizantes. Análises focadas nesta aplicação são geralmente de dois tipos: físicas (granulométricas) e químicas. Análises físicas do solo são utilizadas sobretudo para aferir sua granulometria, e a presença proporcional de componentes como areia e argila, parâmetros extremamente importantes quando se trata da adequação de fertilizantes. Isso porque muitos destes insumos apresentam diferença de performance quando em solos mais, ou menos, granulosos, porosos, ou permeáveis, o que pode conseqüentemente interferir no rendimento do cultivo (LOPES; GUILHERME, 2000)(PYE; BLOTT, 2004)(MELERO et al., 2007).

Análises químicas do solo, por sua vez, determinam principalmente sua acidez (pH), a composição de nutrientes minerais nele presentes, e em qual quantidade. Todos estes fatores são absolutamente determinantes para o crescimento de uma planta, e, portanto, para o sucesso e rendimento do plantio. Métodos tradicionais para quantificação de nutrientes no solo (em especial NPK), como espectrometria colorimétrica e espectrometria de absorção atômica (KIM; SUDDUTH; HUMMEL, 2009), apesar de sensíveis e precisos, são caros, feitos em laboratórios especializados, afastados das plantações, e requerem equipamentos de acesso limitado, manipulados por pesquisadores de alta especialidade (SILVA; RAIJ, 1999)(AUROUX et al., 2002).

Além disso, os resultados não são entregues de prontidão, levando dias para serem finalizados, e só então são repassados ao agricultor. A razão para isso se dá, em partes, devido às múltiplas etapas envolvidas neste processo tradicional de análise, que por vezes exigem que a amostra seja individualmente preparada, extraída, manipulada, e separada, para então ser detectada (SILVA; RAIJ, 1999)(AUROUX et al., 2002)(DE MORAES et al., 2011). Somado ainda às dificuldades relacionadas ao transporte de amostras, que muitas vezes ocasiona sua

descaracterização e perda de propriedades, o conjunto desses fatores cria um cenário pouco estimulante para que o produtor rural busque um serviço de análise de solo, o que pode levar, em muitos casos, às aplicações desmedidas e exageradas de fertilizantes e outros insumos.

1.3 Miniaturização de dispositivos analíticos

Neste cenário, a possibilidade de realizar análises químicas *in situ*, com rápida resposta, baixo custo e simples aplicação, mantendo-se a sensibilidade e confiabilidade do teste, se torna extremamente interessante. Um sensor químico prático, portátil, miniaturizado, que dispensa a necessidade de sair da plantação e pouco exigente de profissionais especializados, seria uma solução extremamente interessante para as diversas dificuldades encontradas nos métodos tradicionais de análise de solos.

A miniaturização do sistema acaba sendo bastante vantajosa por não só diminuir o tempo em que a amostra é analisada, mas também a quantidade de amostra necessária para análise. Estes dispositivos podem possibilitar a redução do volume de amostra a ordens inferiores a nanolitros (nL) (COLTRO, 2008), e com isso, seu manejo se torna mais eficiente. Isso porque muitas delas não são extraídas em abundância, e são por vezes bastante caras, sendo extremamente vantajoso, portanto, que se desprendam quantidades pequenas destas amostras para que se realize a análise. Também, volumes reduzidos das amostras implicam no ajuste das quantidades de reagentes utilizados para sua análise, fator que pode ser de grande importância financeira, e pela redução dos possíveis riscos ambientais relacionados ao descarte inadequado destes compostos (STARK-ROGEL et al., 2020). Além disso, a portabilidade destes sistemas e a possibilidade da realização de testes *in situ* evitam o desprendimento de gastos relacionados ao transporte e eventual comprometimento de amostras. A longo e médio prazo, desenvolvimentos de pesquisas acerca do processo de miniaturização possibilita o aprimoramento de técnicas de montagem e fabricação, além da seleção de materiais viáveis mais baratos, e, portanto, tendem a contribuir também para o barateamento da realização de testes. É de grande interesse que, eventualmente, seja possível baratear a produção destes dispositivos em tal nível que seja viável o descarte destes após a realização dos testes, facilitando manipulação e evitando contaminações entre amostras.

Durante a década de 1990, os estudos de miniaturização de sistemas analíticos começaram a ganhar bastante espaço, e principalmente a partir do início dos anos 2000 o volume de literatura científica produzida neste campo cresceu intensamente (DITTRICH; TACHIKAWA; MANZ, 2006)(VILKNER; JANASEK; MANZ, 2004)(CHOW, 2002). Isso se deu por conta da percepção do gigantesco potencial de aplicabilidade desta tecnologia principalmente nos campos de controle de qualidade alimentícia, farmacêutica, análise diagnóstica na saúde humana e monitoramento ambiental, que motivou o setor privado, além do já envolvido setor acadêmico, a investir no desenvolvimento de dispositivos miniaturizados (FIGEYS; PINTO, 2000). Sabidamente, esta corrente que se formava veio a criar um novo setor de mercado, focado especialmente na miniaturização de procedimentos de análise laboratorial, e que tem investido, mais recentemente, na intercomunicação destes dispositivos analíticos com tecnologias de bolso personalizadas, como smartphones, melhorando acessibilidade e agilizando o tempo de resposta (FREIRE, 2019).

1.4 Sensores Químicos

Sensores químicos são dispositivos capazes de transformar informações químicas em sinais analiticamente detectáveis, ou seja, podem traduzir a presença de um componente específico, ou composição completa de uma mistura, em um sinal útil mensurável (THÉVENOT et al., 1999). Estas informações químicas podem advir de reações químicas na amostra analisada, ou de propriedades físicas deste sistema (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991). O caráter analítico destes sensores implica nos princípios de qualificação e quantificação, e sendo assim, tais dispositivos podem possibilitar a determinação qualitativa, quantitativa, ou semi-quantitativa da concentração de um componente de interesse em determinada amostra (COMPAGNONE et al., 2017).

Sensores químicos são basicamente compostos de duas partes principais: um receptor, e um transdutor. O componente receptor faz o reconhecimento da amostra, podendo ser baseado em princípios físicos (reconhece propriedades físicas da amostra, como condutividade ou absorvância), químicos (quando a ocorrência de uma reação química da origem a um sinal analítico) ou bioquímicos (processo bioquímico é fonte do sinal analítico) (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991). Já o transdutor, ou detector, por sua vez, é responsável pela conversão desta informação em um sinal mensurável, processo denominado transdução do sinal (THÉVENOT et al.,

1999)(LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006) . O sinal detectado pode então passar por etapas de amplificação e processamento, feitas em sistemas eletrônicos, para então serem comunicados ao operador (GRIESHABER et al., 2008) (Figura 1).

São diversos os métodos de transdução encontrados em associação a microdispositivos de análise química, como métodos calorimétricos, óticos, eletroquímicos e elétricos (GADDES; REEVES; TADIGADAPA, 2017) (MEHRVAR; ABDI, 2004)(THÉVENOT et al., 1999). O uso de dispositivos baseados em papel para testes de cromatografia líquida capilar (COLTRO et al., 2010), por exemplo, podem ser bastante baratos e práticos, e tem sido amplamente empregados em escala comercial para testes de gravidez e abuso de drogas (MARK et al., 2010).

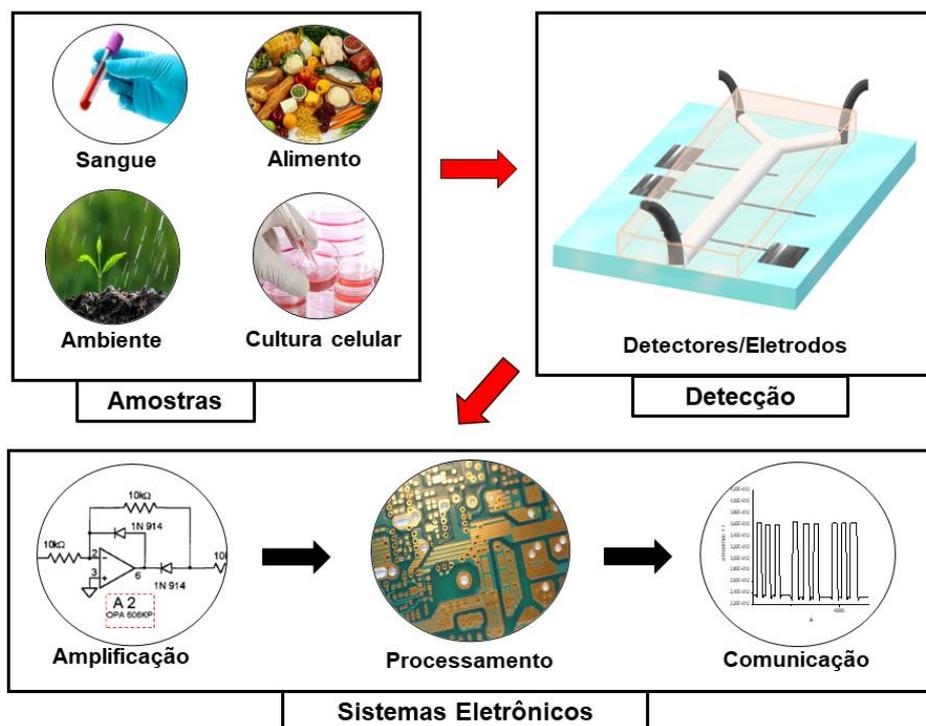


Figura 1. Esquemática das principais etapas e componentes de um sensor químico, desde a coleta e reconhecimento de amostras diversas, passando pela detecção do sinal, sua amplificação, processamento e comunicação do resultado em displays eletrônicos. *FONTE:* produzido pelo autor, adaptado de Grieshaber et. al., 2008.

1.4.1 Detectores Elétricos e Detecção Condutométrica

Detectores elétricos são dispositivos, ou circuitos integrados, que fazem a detecção de um parâmetro físico específico em uma amostra, e convertem esta informação em um sinal elétrico, que pode ser então processado e utilizado para a uma medição (MAXIM INTEGRATED, 2021). Atualmente, os sensores elétricos, como

são denominados aqueles que utilizam de técnicas de detecção elétricas, compreendem boa parte dos esforços voltados ao desenvolvimento de dispositivos analíticos por serem sistemas de grande sensibilidade, custo moderado e boa portabilidade. São versáteis, e demonstram grande capacidade de automação, miniaturização e controle de variáveis experimentais. Algumas desvantagens, entretanto, associadas a estes dispositivos estão relacionadas às reações analito-eletrodo, que podem afetar a sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade do método, e a complexidade de interações de tunelamento de elétrons que podem ocorrer na interface eletrodo-amostra (GRIESHABER et al., 2008)(LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006).

São diversos os métodos classificados como elétricos para a transdução de sinal. Condutometria, ou impedimetria, é o método de transdução elétrica empregado pelos denominados detectores condutométricos. O termo se refere à medição de diferenças em condutividade, ou impedância, em uma amostra, diretamente relacionadas à concentração de cargas iônicas presentes na solução, conseqüentemente traduzidas na concentração de analitos específicos (KARUNAKARAN; RAJKUMAR; BHARGAVA, 2015). Condutividade elétrica é um parâmetro importante de uma solução eletrolítica, conferindo relevância à sua detecção, tanto para a pesquisa acadêmica quanto para aplicações industriais (LYU et al., 2016). Dentre as diversas abordagens para detecção condutométrica disponíveis hoje no campo da química analítica, o C⁴D, ou Detecção Condutométrica Sem Contato Acoplada Capacitivamente, ocupa posição de destaque, principalmente por sua simplicidade, aplicabilidade e baixo custo.

1.5 Detecção Condutométrica Sem Contato Acoplada Capacitivamente (C⁴D)

1.5.1 Descrição

O C⁴D é um método capaz de analisar, de maneira simples e sensível, a presença de diversos analitos, como cátions metálicos, aminoácidos e íons orgânicos, através da avaliação de mudanças de condutividade em uma amostra (ZHANG et al., 2019). É uma técnica analítica bastante conveniente, que ganha espaço crescente por ser rápida, de baixo custo, e por exigir instrumentações simples, além de possibilitar o acoplamento de outros métodos de detecção simultâneos, e ter bastante versatilidade estrutural (ELBASHIR; SCHMITZ; ABOUL-ENEIN, 2017)(KUBÁŇ; HAUSER, 2008).

Como mencionado, a técnica funciona em resposta a quaisquer alterações de condutividade detectadas em sua célula detectora. Este caráter de universalidade do C⁴D é importante por conferir abrangência de analitos passíveis de detecção, aumentando o espectro de aplicações para o método (ELBASHIR; ABOUL-ENEIN, 2014). Contudo, o ganho de universalidade implica diretamente em perda de seletividade, à medida que se torna difícil, com o uso isolado do detector condutométrico, atribuir em uma mistura a qual componente específico corresponde determinada alteração de condutividade observada. Por isso, o uso da técnica de C⁴D é mais comumente descrito sendo acoplado à métodos de separação, com base na aplicação pretendida (ELBASHIR; SCHMITZ; ABOUL-ENEIN, 2017), como a eletroforese capilar (CE), descrita pelos pesquisadores Fracassi da Silva e do Lago, e Zemmann, em 1998 (FRACASSI DA SILVA; DO LAGO, 1998).

Convencionalmente, os métodos de detecção condutométrica acontecem com o contato da solução da amostra com o eletrodo detector (LYU et al., 2016)(KANIANSKY et al., 1999). Esse contato, entretanto, pode se mostrar contra produtivo, à medida que oferece ao método riscos relacionados a reações eletroquímicas da amostra com o eletrodo (eletrólise, por exemplo), efeito direto de polarização, além da contaminação e desgaste do próprio eletrodo, que podem levar a erros experimentais e imprevisibilidade de resultados, limitando também as aplicações da técnica (LYU et al., 2016)(ELBASHIR; ABOUL-ENEIN, 2012). Em C⁴D, por ser uma detecção condutométrica sem contato, essas complicações deixam de ser relevantes, dado que o eletrodo é fisicamente separado da amostra por um componente dielétrico (isolante) (VANDAVEER IV et al., 2004)(ZHANG et al., 2012).

1.5.2 Estrutura e funcionamento

Dispositivos de detecção C⁴D possuem detectores formados por três eletrodos: um eletrodo de excitação, um sistema terra, e um eletrodo receptor (ZHANG et al., 2019). A medida de condutividade nestes detectores é feita da seguinte maneira: primeiramente, aplica-se à amostra um sinal de corrente alternada (AC), ou seja, uma onda senoidal de alta frequência, por meio do eletrodo de excitação. O sinal aplicado à amostra é detectado pelo eletrodo receptor, em forma de uma corrente resposta. Este eletrodo é conectado a um conversor corrente-voltagem, que posteriormente retifica e amplifica o sinal para fazer sua medição. O sistema terra, posicionado entre os eletrodos de excitação e receptor, cumpre a função minimizar a capacitância de

fuga, aumentando sensibilidade e evitando a ocorrência de interferências elétricas entre os eletrodos, que poderiam causar imprecisão dos resultados e falta de coerência experimental (ZHANG et al., 2019)(ELBASHIR; ABOUL-ENEIN, 2012)(HAUSER; KUBÁŇ, 2020).

Inicialmente, os dispositivos C⁴D utilizavam agulhas como eletrodos de excitação e receptor, posicionados nas pontas dos capilares, e unidos aos microcanais por adesivos condutores de prata, com a finalidade de aumentar sensibilidade do sistema (ZHANG et al., 2019). Atualmente, uma estruturação comumente encontrada para estes dispositivos adota eletrodos tubulares, alinhados externamente ao capilar de separação de eletroforese capilar, fazendo a detecção condutométrica da solução que percorre o interior da estrutura (FELIX et al., 2006)(GUIJT et al., 2001). Desta maneira, os eletrodos ficam galvanicamente isolados da amostra, resultando na geração de capacitância, possibilitando, por consequência, a sondagem condutométrica da solução, ainda que sem contato com o eletrodo (HAUSER; KUBÁŇ, 2020).

Alternativamente, visando melhorar a integração do sistema e otimizar a relação entre o sinal medido e ruídos, muitos detectores condutométricos C⁴D são construídos em estrutura planar atualmente (ZHANG et al., 2019). No modelo adotado, baseado em placas de circuito impressa (*printed circuit boards*, PCB), o capilar de transporte da amostra é posicionado horizontalmente sobre o eletrodo planar – sendo que o isolamento entre eles é mantido (ZHANG et al., 2019)(VANDAVEER IV et al., 2004).

1.5.3 Construção de dispositivos analíticos em C⁴D

Tradicionalmente, eletrodos metálicos em vidro para detecção condutométrica são construídos por meio de técnicas fotolitográficas (COLTRO et al., 2007). Técnicas alternativas, como deposição elétrica e redução química, por exemplo, também podem ser encontradas na fabricação de eletrodos metálicos, e em geral dependem do metal escolhido (KLOKE et al., 2011). Fotolitografia é um protocolo para a fabricação de estruturas planares em relevo, baseada na deposição demarcada de um material de interesse sobre uma base estável. Apesar de adaptações protocolares serem encontradas para a realização da fotolitografia, as etapas básicas do processo permanecem um denominador comum, bem como o conjunto básico de reagentes (COLTRO et al., 2007).

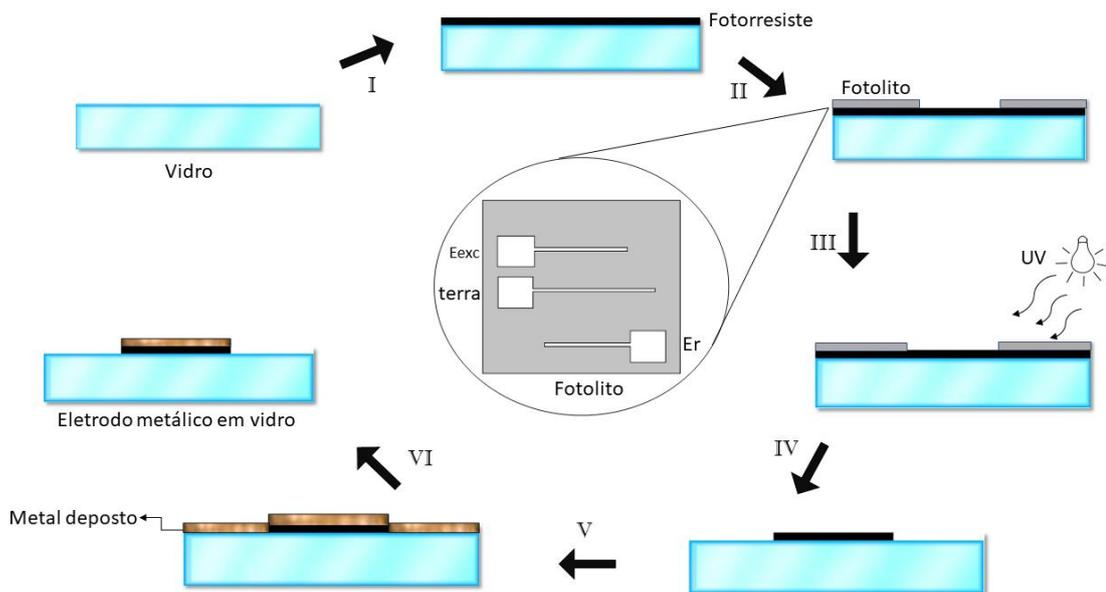


Figura 2. Esquematização da técnica de fotolitografia para a fabricação de eletrodos metálicos em vidro, destacando a deposição do fotorresiste (I) sobre uma lâmina (limpa) de vidro, posicionamento do fotolito sobre o fotorresiste (II), exposição do conjunto vidro-fotorresiste-fotolito à uma radiação específica UV (III), revelação do padrão no fotorresiste com solventes orgânicos (IV), deposição do metal, comumente pelo método de deposição física a vapor (V), e etapa de lavagem para a retirada do metal excedente (VI). Ao centro: visão frontal das demarcações vazadas em um fotolito para o desenho de um eletrodo hipotético, com eletrodo de excitação (Eexc), sistema terra e eletrodo receptor (Er). *FONTE:* produzido pelo autor.

Para eletrodos metálicos em vidro, o funcionamento da técnica fotolitográfica (Figura 2) é descrito pela deposição, sobre lâmina limpa de vidro, de um material fotossensível chamado fotorresiste, que servirá de base para a deposição do metal. Sobre ele é deposto um outro componente, denominado fotolito, uma máscara opaca que possui demarcações transparentes do design planejado para o eletrodo. O conjunto é exposto a radiações UV, em condições ambientais controladas, que leva o fotorresiste a se polimerizar, e se aderir fortemente ao vidro somente nas regiões demarcadas pelo fotolito (COLTRO et al., 2007). Este é o método convencionalmente denominado fotolitografia por contato ou proximidade, já que a máscara (fotolito) se encontra em contato com a camada do fotorresiste, e, portanto, produzirá uma imagem 1:1 do desenho da máscara sobre a lâmina, mediante exposição à radiação UV (WU; HSIEH; LEE, 2019).

Então, a lâmina de vidro com o fotorresiste em design desejado é tratada com solventes orgânicos específicos (processo chamado de revelação) (COLTRO et al., 2007) e passa pelo processo de deposição física do metal por jateamento a vapor (outros métodos, como deposição química do metal, também podem ser realizados).

O metal, que se encontra depositado tanto sobre o vidro quanto sobre o fotorresistente, passa por uma etapa de lavagem, visando a retirada do metal excedente sobre o vidro. Ao final deste processo, o que resta é a lâmina de vidro com o metal, firmemente depositado somente no design pretendido.

Embora as técnicas fotolitográficas tenham resultados excelentes no quesito precisão, reprodutibilidade e dimensão dos eletrodos produzidos, muito adequados à miniaturização, as diversas etapas envolvidas no método exigem equipamentos de acesso limitado, estrutura específica (sala limpa) e reagentes de alto custo (WU; HSIEH; LEE, 2019). Assim, é extremamente interessante que sejam desenvolvidos novos métodos, com materiais de baixo custo, equipamentos acessíveis e de simples manipulação, bem como pré-requisitos estruturais menos exigentes, para a fabricação de eletrodos metálicos para C⁴D.

1.5.4 Método Alternativo para a produção de detectores condutométricos

Anteriormente à entrada do autor no grupo de pesquisa BioMics, o desenvolvimento de um dispositivo analítico baseado em C⁴D para detecção de nutrientes em solo já estava em andamento. Já haviam sido produzidos resultados extensos e bastante satisfatórios quanto aos métodos de fabricação de eletrodos metálicos para detecção C⁴D, visando simplificar e baratear seus meios de produção. Materiais alternativos foram testados, adaptados e protocolados, e possibilitaram a produção destes eletrodos de maneira mais acessível e conveniente, com redução de até 64% do custo de produção, se comparados a técnicas tradicionais (TAKEKAWA et al., 2021).

Optou-se pela técnica de máscaras vazadas, que consiste na deposição física direta de metal (a vapor) em lâminas de vidro demarcadas por máscaras de papel adesivo com o desenho desejado para o eletrodo, feitos por cortadoras a laser, que são então removidas com solvente, deixando depositado sobre a lâmina de vidro somente o metal com o desenho planejado (Figura 3). Além de instrumentação simplificada, os reagentes e processos envolvidos neste método são mais acessíveis, de custo reduzido e manipulação menos exigente. Foram testados vários metais: ouro (ouro-cromo), cobre e alumínio. O alumínio se mostrou claramente a melhor opção para a produção dos eletrodos: barato, acessível, com boas propriedades mecânicas, condutividade e aderência no vidro.

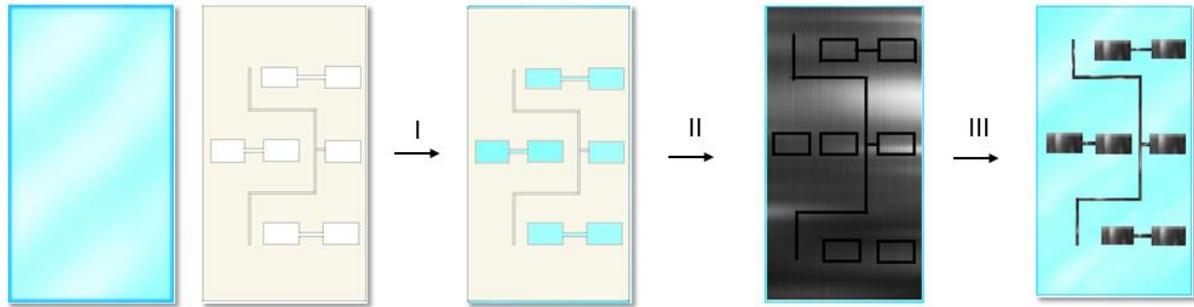


Figura 3. Produção esquematizada de eletrodos de alumínio pelo método de mascaras vazadas e deposição física a vapor, destacando as etapas de colagem da máscara sobre a lâmina de vidro (I), deposição do metal sobre máscara (cobrindo a totalidade da lâmina, mas em contato com o vidro somente nas porções vazadas) (II) e retirada da máscara (III). *FONTE:* produzido pelo autor.

O isolamento da superfície eletrodo-amostra, indispensável para o C⁴D, também foi adaptado. Tradicionalmente, esse isolamento pode ser feito pelo o revestimento da superfície do eletrodo com um dielétrico de óxido de silício (SiO₂), por deposição física a vapor. Apesar desta estratégia ter sido testada pelo grupo, padronizou-se o uso da própria lâmina de vidro como dielétrico, fazendo a aplicação da amostra na superfície da lâmina oposta aos eletrodos, tornando o processo significativamente mais simples e acessível.

1.5.5 Aplicações

Até então, a aplicabilidade do C⁴D tem sido restrita principalmente para o campo da química analítica, na detecção e quantificação de íons (LYU et al., 2016). Essa aplicabilidade, contudo, passa por uma notável expansão, e diversos trabalhos têm sido publicados relatando o emprego deste método em finalidades diversas, principalmente nas esferas farmacêutica, biomédica e de análises alimentares e ambientais (ELBASHIR; SCHMITZ; ABOUL-ENEIN, 2017). O ganho de notoriedade do método resultou em seu uso para análises de amostras de baixo peso molecular, por sua resposta de condutividade equivalente relativamente alta, facilmente detectada em C⁴D (KUBÁŇ; BOČEK, 2013). Por consequência, a técnica foi empregada, com sucesso, em detecções de amostras de urina, saliva e sangue para análises biomédicas, e tentativas têm sido feitas para a quantificação de células inteiras, de grande utilidade na pesquisa acadêmica (ZHANG et al., 2019)(ELBASHIR; ABOUL-ENEIN, 2012)(ELBASHIR; ABOUL-ENEIN, 2010)(KUBÁŇ; BOČEK, 2013).

1.5.6 Detecção C⁴D para o uso de fertilizantes

Como previamente contextualizado, o Brasil é atualmente um dos principais atuantes do mercado internacional agropecuário. O papel que o país exerce neste

cenário cria uma relação mutua de dependência bastante delicada: é exigido das plantações brasileiras que se tenha grande rendimento, o que paralelamente significa, a nível prático, que o uso de fertilizantes é indispensável.

Isso não significa, contudo, que deva haver descaso e falta de controle, tanto de quantidade, quanto de qualidade no uso de fertilizantes. Na verdade, este cenário serve para exemplificar a importância do conhecimento do perfil de solos e suas propriedades nutricionais, para melhor avaliação dos tipos e quantidades de fertilizantes a serem aplicados. Estima-se que cerca de 600 milhões de análises de solo sejam feitas anualmente no mundo, 400.000 dessas somente no Brasil, dados que fornecem também exemplificação clara da proporção mercadológica deste serviço (DEMATTÊ et al., 2019).

Assim, sensores químicos miniaturizados baseados em C^4D se fazem de extrema relevância socioeconômica. Muitos métodos de detecção, sobretudo óticos e eletroquímicos, já foram associados à dispositivos para determinação de macronutrientes agrícolas para agricultura de precisão (KIM; SUDDUTH; HUMMEL, 2009), sobretudo os chamados eletrodos íon-seletivos (ISE/ISFET). Apesar de já registradas (SMOLKA et al., 2017), não se encontram frequentemente publicadas aplicações da técnica C^4D para esta finalidade, sem o uso de etapas de separação ou controle de injeção de amostra. Além de ser prática e de rápida resposta, seu carácter universal de análise possibilita a detecção de uma grande variedade de compostos no solo, *in situ* e com boa sensibilidade. Também, a preservação do eletrodo pelo fato da técnica ser sem contato, concede a estes dispositivos miniaturizados maior vida útil, aspecto de grande relevância pela relação de eficiência e custo.

Para maior seletividade, podem ser associadas à detecção etapas adicionais de separação e controle de injeção de amostra, por exemplo, que capacitam o dispositivo a realizar detecções de íons de interesse em amostras complexas. Dado o carácter universal do método de C^4D , é natural imaginar que a medida de amostras onde haja a mistura de analitos de interesse deve necessariamente ser acompanhada etapas preparatórias. Alternativamente, uma estratégia foi inicialmente proposta no presente trabalho: a detecção de um composto específico através da exclusão de sinais adjacentes, correspondentes a interferentes. Em outras palavras, foi proposto o uso de reagentes complexantes para a mascarar a condutividade de interferentes, possibilitando a detecção dos remanescentes (analitos de interesse). Neste contexto,

o uso dos reagentes óxido de magnésio (MgO) e éter 18-coroa-6 tem crucial importância para a estratégia apresentada (figura 4).

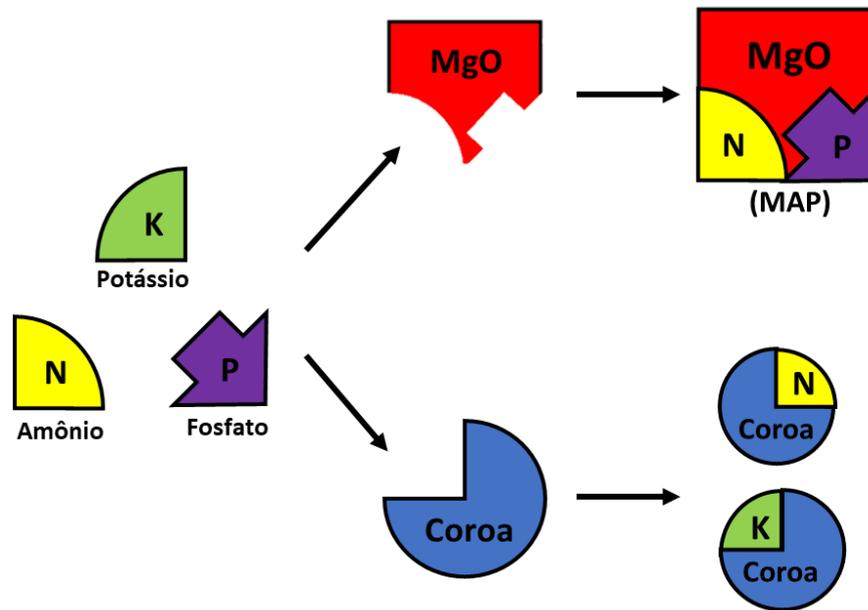


Figura 4. Esquemática ilustrativa da complexação dos íons NPK com o uso dos reagentes MgO e éter 18-coroa-6. *FONTE:* produzido pelo autor.

O MgO é um composto há muito amplamente utilizado para precipitação química de fósforo e amônio no tratamento de águas residuais de granjas, fábricas de laticínios e esgoto humano (ULUDAG-DEMIRER; OTHMAN, 2009). Apesar de, se comparado a sais de cálcio ou alumínio, não ser a opção de menor custo, seu uso tem grandes vantagens: a complexação dos íons fosfato e amônio na forma de estruvita, formando fosfato de amônio magnésio, ou MAP. Além de possibilitar reciclagem destes íons e descontaminação da água, o MAP pode ser utilizado como insumo agrícola de lenta dissociação e baixíssimo impacto ambiental (CHIMENOS et al., 2003). Já o éter 18-coroa-6, apesar de menos caracterizado classicamente para esta aplicação, também já foi amplamente reportado pela característica força de interação na captura dos íons potássio, principalmente, mas e também do amônio (OZUTSUMI; ISHIGURO, 1992)(KADO; KIMURA, 2003)(MÜLLER et al., 2009). Assim, apresenta-se a proposição metodológica deste trabalho: o uso destes reagentes, chamados complexantes, para a complexação química seletiva dos íons NPK em solução aquosa, possibilitando sua detecção, e posterior quantificação. O desenvolvimento de novos ou mais acessíveis métodos de fabricação dos eletrodos e aprimoramento de sua geometria, bem como maior integração e controle do sistema C⁴D como um todo, são fundamentais para otimizar sua resolução e espectro de detecção esperado do

método. Além disso, o aprimoramento destas técnicas deve levar à diminuição do tempo e custo de análises, criando maior acessibilidade e possibilidades para os dispositivos analíticos em C⁴D.

2. Objetivos

Objetiva-se com esse trabalho, a padronização do uso de um eletrodo metálico baseado em C^4D , produzido por meio de técnicas baratas e acessíveis, para a detecção prática e sensível dos íons Amônio, Fosfato e Potássio (NPK), macronutrientes de interesse agrícola, em soluções padrão e em mistura. Para isso, pretende-se desenvolver um protocolo com o uso de reagentes complexantes, que possibilitem sua quantificação individual com rapidez e confiabilidade. Assim, espera-se conseguir evidências para a aplicação deste dispositivo na detecção C^4D de NPK em amostras de solo.

2.1 Objetivos específicos

- Detectar em amostras padrão de íons fosfato, potássio e amônio (NPK) utilizando o eletrodo metálico para C^4D produzido pelo grupo pela técnica de máscaras vazadas;
- Otimizar das faixas de concentração para detecção de cada íon de interesse de maneira individual e produzir curvas analíticas dos eletrodos;
- Aferir dos parâmetros de reprodutibilidade, repetibilidade, limite de detecção e limite de quantificação para os eletrodos;
- Investigar a detecção individual dos íons em misturas, mediante reações de complexação com os reagentes Óxido de Magnésio (MgO) e éter 18-coroa-6;
- Monitorar parâmetros amplitude e frequência do sinal senoidal, averiguando a existência possíveis regiões de maior sensibilidade para a detecção de cada íon de maneira isolada;

3. Materiais e Métodos

3.1 Fabricação dos eletrodos

Para o processo de produção dos eletrodos de alumínio pelo método de deposição física em máscaras vazadas, máscaras em papel adesivo (etiqueta inkjet + laser, papel carta, Bic) foram cortadas em uma cortadora a laser (modelo laser6000, COMBAT LASER), com base em designs feitos em programas computacionais (AutoCAD, Autodesk). Para a cortadora a laser, adotou-se a configuração de uso: velocidade 30 e força 15. Para a remoção das máscaras, após testes com vários reagentes (água, acetona, etanol), adotou-se a submersão da lâmina-máscara em álcool isopropílico por 20 minutos. A deposição física do alumínio metálico na lâmina de vidro foi feita com jateamento a vapor em uma Evaporadora Balzers Modelo BAK 600, adquirindo uma espessura de aproximadamente 150 nm de metal depositado.

3.2 Experimentos em C⁴D

3.2.1 Setup Experimental

A realização dos testes se inicia com a montagem dos equipamentos (Figura 5). Um gerador de funções (Tektronix Inc., CFG250) e o próprio equipamento C⁴D (desenvolvido por Francisco e do Lago, no Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 2009) (FRANCISCO; DO LAGO, 2009) são conectados. O eletrodo é posicionado em um suporte específico de acrílico, com orientação determinada. Como o próprio vidro da lâmina do eletrodo é usada como dielétrico no experimento, a superfície da lâmina contendo o metal deve ser corretamente posicionada para baixo, deixando a superfície oposta do vidro para cima e em contato com a amostra.

O suporte (III) é composto basicamente de duas partes acrílicas independentes, feitas em cortadora a laser e fixadas por meio de quatro parafusos e porcas. A base, onde se posiciona a lâmina de vidro, possui fitas metálicas (alumínio) para conexão dos eletrodos de excitação e receptores (juntamente ao sistema terra), a cabos ligados ao gerador de funções e ao C⁴D, respectivamente. A segunda parte, montada sobre a lâmina, possui uma janela retangular vazada, contornada por uma fina camada de PDMS (poli(dimetilsiloxano)), que delimita o espaço para a amostra na célula de detecção do sistema, e realiza a selagem do suporte quando este está corretamente

fechado. Para os testes, o volume de 500 μL de amostra (II) se mostrou adequado para o preenchimento do espaço reservado do suporte.

O gerador de funções (I) possui uma série de parâmetros que devem ser ajustados anteriormente à realização do teste. São eles a frequência, a voltagem, e o tipo do sinal. Padronizou-se o uso de sinais senoidais, com frequência 400 kHz e 0,75V, protocolo que foi mantido durante a realização dos testes deste trabalho (a menos que indicado o contrário).

O equipamento C⁴D, corretamente conectado ao suporte do eletrodo, foi ligado a um computador (via conexão USB), que contém o software C4DSoft (desenvolvido pelos grupos de Francisco e do Lago) (FRANCISCO; DO LAGO, 2009), por meio do qual foi controlado o andamento do teste, e por onde foram comunicados os resultados (IV). O tempo de duração da corrida e o controle de início e fim do teste foram feitos também por meio da interface do software C4DSoft.

Em geral, múltiplas medidas foram realizadas para uma amostra, afim de garantir a reprodutibilidade dos dados obtidos. Foi feito um número (n) de três medições para cada amostra ($n=3$). Intervalos breves e controlados de tempo foram adotados para a permanência da amostra na célula, e para a troca entre medições ou amostras, de modo que fosse possível identificar isoladamente, ao final do experimento, a qual amostra corresponde determinado sinal. Para os testes, adotou-se o uso de intervalos 15s/30s/90s (15 segundos entre medições, 30 segundos para a permanência da amostra na célula detectora, e 90 segundos entre amostras distintas).

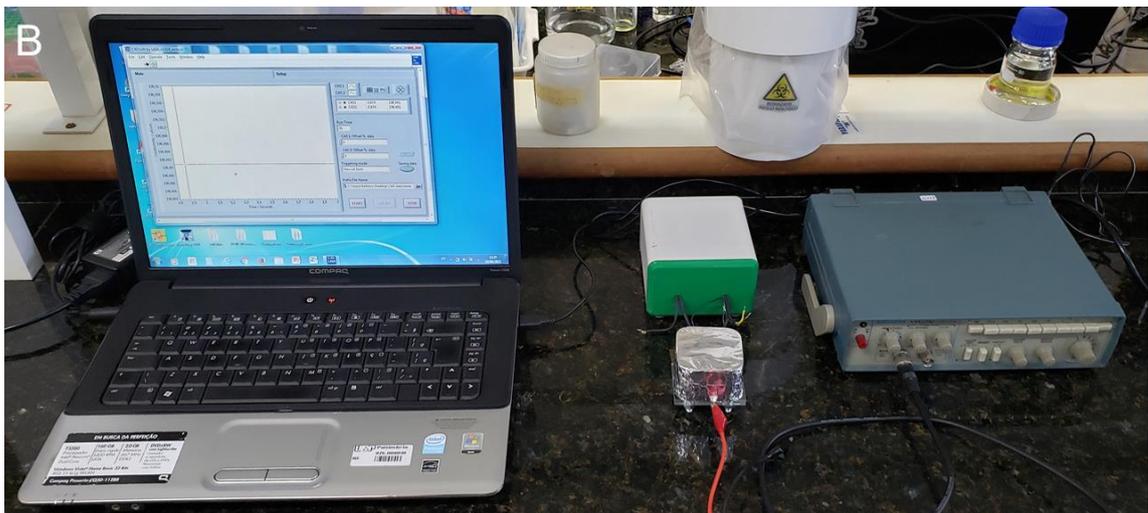
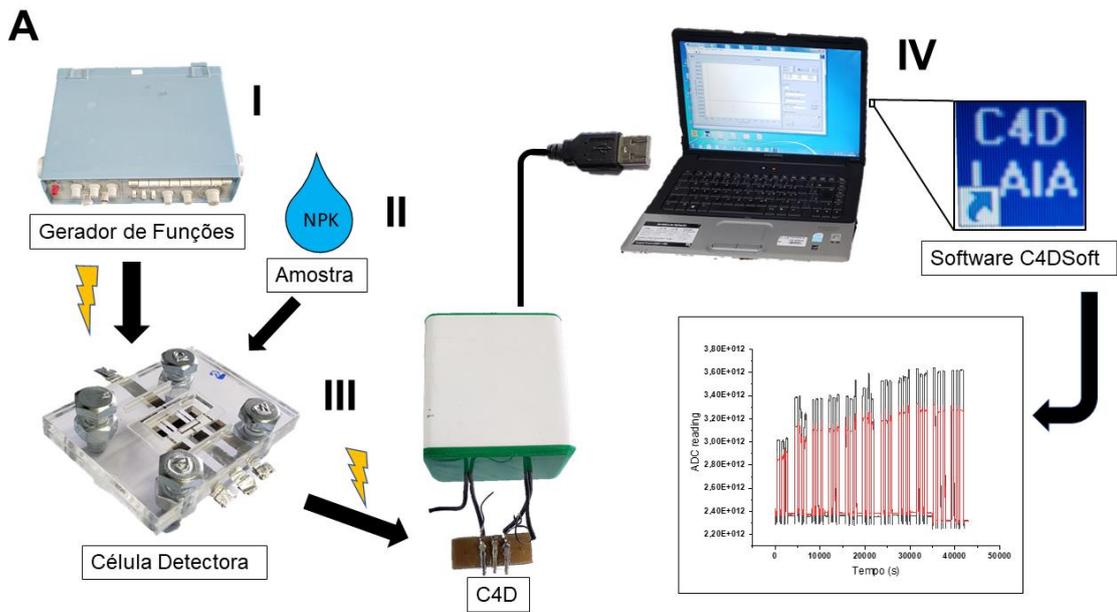


Figura 5.A. Esquemática do setup experimental para os experimentos realizados em C⁴D, denotando principais componentes e etapas. **B.** Foto da montagem dos equipamentos para testes em C⁴D em bancada, ilustrando sua disposição e setup experimental. *FONTE:* desenvolvido pelo autor.

Por ser um teste bastante sensível e susceptível a interferências externas, utilizou-se uma pequena caixa revestida de alumínio como gaiola de Faraday, posicionada sobre e cobrindo a célula detectora. Sua função é melhor isolar eletricamente a célula do dispositivo, e garantir maior consistência nos resultados apresentados. Esse aparato foi utilizado a todo momento, retirado somente quando havia necessidade de adicionar ou remover a amostra na célula detectora.

Finalizado o experimento, realizou-se a rotina de higienização do eletrodo, que consiste em sua limpeza com algodão, lavagens com isopropanol, água ultrapura e

secagem com ar comprimido. Este foi então armazenado, e reutilizado em testes subsequentes.

3.2.2 *Curvas Analíticas*

Para a produção de curvas analíticas dos íons fosfato, potássio e amônio, duas etapas de testes em C⁴D foram feitas. Primeiramente, foram testadas soluções padrão (em água ultrapura) de fosfato de sódio dibásico, acetato de potássio e acetato de amônio isoladamente, nas concentrações: 0,00 (branco), 0,01, 0,025, 0,05, 0,075, 0,1, 0,25, 0,5, 0,75, 1,00 e 10,00 mmol L⁻¹. Posteriormente, para cada íon foi identificado um conjunto de amostras em uma faixa de concentrações mais estreita, onde o eletrodo apresentasse maior sensibilidade de resposta, que foi novamente testado.

As curvas analíticas foram produzidas por meio da seleção de soluções de concentração distintas, que exprimissem um padrão de condutividade crescente e linear, fora dos platôs de saturação do sinal analítico e do limite inferior de detecção. Cada concentração foi medida um total de três vezes ($n=3$), de modo que o valor de condutividade de cada amostra seja um cálculo da média de condutividade de suas três medidas, subtraídas de seus sinais base (sinal detectado quando não há amostra na célula detectora). Foram também calculados o desvio padrão destas medições, e bem como seu desvio padrão relativo (%RSD). Os valores de RSD, ou porcentagem de erro, foram analisados e julgados aceitáveis quando relativamente uniformes dentre as amostras, e contidos abaixo da faixa ideal admitida em 5,00%.

3.2.3 *Repetibilidade*

Para o teste de repetibilidade, amostras padrão dois íons NPK, de concentração determinada com base em suas respectivas curvas analíticas, foram medidas em um mesmo eletrodo. As concentrações escolhidas para este teste foram 0,125 mmol L⁻¹ para o íon fosfato, 0,200 mmol L⁻¹ para o potássio, e 0,035 mmol L⁻¹ para o amônio. Adotou-se seis medições para cada íon ($n=6$), e então foram feitos os cálculos de média de condutividade, desvio padrão das medições, e porcentagem de erro associada ao desvio padrão.

3.2.4 *Reprodutibilidade*

Para o teste de reprodutibilidade, amostras padrão de cada íon, em uma determinada concentração, foram medidas em três eletrodos diferentes, fazendo-se os cálculos de média de condutividade, desvio padrão, e porcentagem de erro

associada a estas medições ($n=3$). O processo foi repetido para os três íons. A concentração escolhida para cada íon foi baseada nos resultados da curva analítica, sendo as mesmas utilizadas no teste de repetibilidade.

3.2.5 Limite de Detecção e Limite Quantificação

Os limites de detecção (*Limit of Detection*, LOD) e quantificação (*Limit of Quantification*, LOQ) foram determinados fazendo-se seis medidas, em um único eletrodo, da amostra branca, ou de concentração zero de íons. Neste caso, utilizou-se água ultrapura, que é também o solvente utilizado nos preparos de soluções de cada íon. Assim como foi feito para o teste de repetibilidade, foram adotadas seis medições. Escolhidas essas medições, foram feitos os cálculos de média de condutividade, desvio padrão e porcentagens de erro.

O valor de desvio padrão encontrado para as medições do branco (DP) foi então utilizado para o cálculo dos parâmetros de LOD e LOQ para cada íon, que também leva em consideração a inclinação de reta de sua curva analítica (IC), conforme equacionado abaixo (baseado em Tóth et al., 2004) (TÓTH et al., 2004).

$$\text{Equação I: } LOD = \frac{3.DP}{IC} \quad \text{Equação II: } LOQ = \frac{10.DP}{IC}$$

3.2.6 Testes de misturas dos íons com complexantes éter 18-coroa-6 e MgO

Nos testes de complexação foram detectadas misturas dos íons NPK em concentrações distintas da curva analítica, com diferentes combinações dos reagentes complexantes éter 18-coroa-6 (Sigma Aldrich) e óxido de magnésio, MgO (Henrifarma), sempre em concentração suficiente calculada para ocorrência de complexação, acompanhando as concentrações adotadas para os íons. Primeiramente, uma mistura dos três íons foi detectada, resultando em um valor de condutividade admitido para sua combinação, denominado sinal total. Então, essa mistura foi incubada por tempo estimado em 15 minutos, com soluções de cada precipitante (pesados em balança analítica, em solvente água ultrapura), e então detectada, fornecendo um sinal base tomado como controle. Em seguida, a mistura dos íons foi exposta somente ao reagente MgO, que complexaria os íons amônio e fosfato, cujo sinal resposta, quando subtraído do sinal base mencionado, fornece o sinal correspondente somente ao íon potássio na mistura. O mesmo se repetiu para o reagente 18-coroa-6, que deveria complexar os íons amônio e potássio, possibilitando

a aferição do sinal correspondente ao fosfato. Por fim, o sinal correspondente ao amônio pode ser avaliado com base na subtração dos sinais anteriormente obtidos em relação ao sinal total (figura 6).

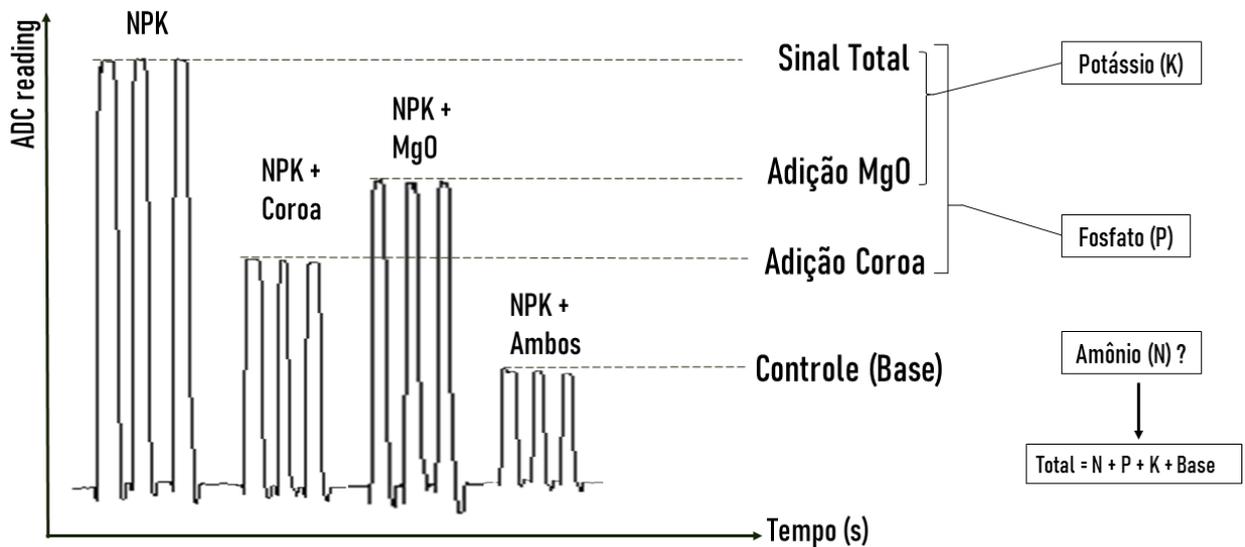


Figura 6. Representação ilustrativa do delineamento experimental planejado para o protocolo de complexação com reagentes MgO e éter 18-coroa-6, ressaltando a obtenção dos sinais individuais de condutividade dos NPK com base na combinação de soluções mistura dos íons com complexantes. *FONTE:* produzido pelo autor.

3.2.7 Monitorando Amplitude e Frequência: protocolo alternativo para detecção individualizada de NPK

Soluções de cada íon, em concentração intermediária da curva analítica ($0,125 \text{ mmol L}^{-1}$ para o fosfato, $0,20 \text{ mmol L}^{-1}$ para o potássio, e $0,035 \text{ mmol L}^{-1}$ para o amônio) foram testadas, separadamente, na célula de detecção do dispositivo, sob condições variáveis de amplitude e frequência do gerador de funções. A solução permaneceu sobre o eletrodo, enquanto um espectro crescente de amplitudes ($0,25$ a $2,00 \text{ V}$), em combinação com um espectro, também crescente, de frequências (200 a 1200 kHz) eram aplicados ao sistema. O mesmo foi feito para a célula detectora vazia, sem quaisquer amostras, para a produção da curva correspondente ao *baseline* do sinal, posteriormente subtraído dos sinais correspondentes para cada íon. O mesmo teste foi repetido para os íons todos em mesma concentração, $0,20 \text{ mmol L}^{-1}$.

3.3 Tratamento e análise de dados

Após a realização do teste em C⁴D, o arquivo gerado no software C4DSoft deve ser transportado a outros programas, como Microsoft Office Excel (2019) e o OriginPro

(Origin Lab, versão 9.6.5.169, 2019), que facilitarão manipulação matemática dos dados e possibilitam a visualização esquematizada de seus resultados.

O design do eletrodo de alumínio em vidro foi desenvolvido de modo conter dois eletrodos receptores, além dos tradicionais eletrodos de excitação e sistema terra (Figura 7). Para os experimentos realizados neste trabalho, aproveitou-se somente o sinal de apenas um dos eletrodos receptores (C4D1), visto que este demonstrou, em todas as ocasiões, maior sensibilidade (maior alteração de condutividade observada para as medições, em relação aos valores de sinais base) e estabilidade do sinal observado.

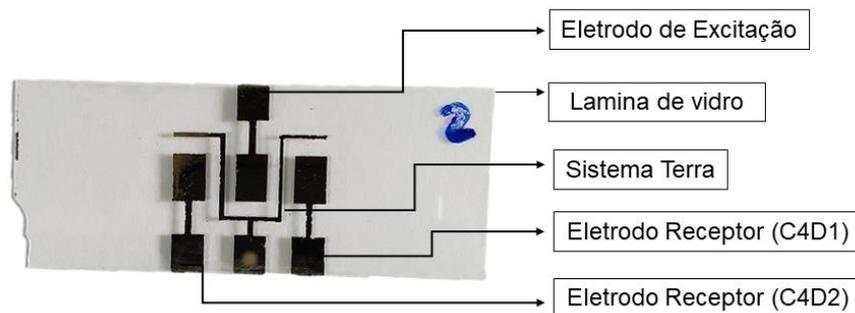


Figura 7. Eletrodo utilizado para os experimentos C⁴D descritos, ressaltando seus componentes estruturais e a presença de dois eletrodos receptores. FONTE: desenvolvido pelo autor.

É também realizada uma etapa de tratamento da curva conhecida como *smoothing*, ou suavização. O método selecionado para o *smoothing* foi o de média de pontos adjacentes, feito com 50 pontos. Isso significa que cada valor de condutividade é recalculado como média dos 50 pontos adjacentes, e, portanto, sinais agudos e de comportamento incoerente são suavizados na curva (Figura 8).

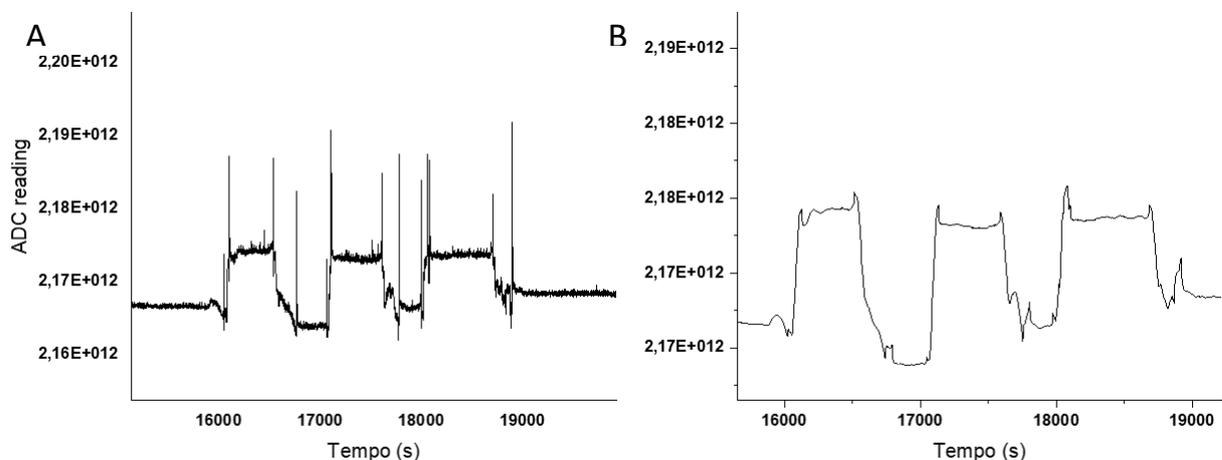


Figura 8. Exemplificação do processo de *smoothing* (suavização) da curva, no processamento de dados, feito com amostra de acetato de amônio em concentração $0,015 \text{ mmol L}^{-1}$, em C⁴D. Em A, observa-se a curva antes da suavização, com sinais de interferência e instabilidade, que já não podem ser observadas na curva suavizada pelo método de média adjacente com 50 pontos (em B). *FONTE:* desenvolvido pelo autor.

4. Resultados

4.1 Produção de curvas analíticas para os íons fosfato, potássio e amônio

Primeiramente, o comportamento de detecção do eletrodo para cada íon foi investigado através da construção de curvas analíticas. Sua produção consiste na medição de soluções padrão de concentrações distintas, contidas em janelas ótimas identificadas para cada íon e medidas em C⁴D, e na utilização destes pontos para a regressão do método analítico. Um comportamento crescente é esperado para este método de detecção, dado que a condutividade de uma solução é altamente dependente da quantidade de íons (cargas) nela presente. Além dos valores de desvio padrão e porcentagem de erro associada às medições de cada amostra, à esta curva é atribuída uma regressão linear, da qual, por sua vez, analisam-se parâmetros como inclinação da reta (fundamental ao cálculo de sensibilidade do eletrodo) e coeficiente de determinação (R²), que fornecem confirmação da representatividade da calibração, ou seja, da qualidade das medições feitas pelo sistema.

A inadequação da margem de erro, ou desvio padrão relativo à média (admitida como ideal máximo em 5,0%), por vezes observada nas medições, é um comportamento que apesar de pouco previsível, pode ser atribuído à falta de homogeneidade no manuseio e aplicação de amostras no equipamento, instabilidade de condições experimentais, e falta de reprodutibilidade na produção dos eletrodos. Para a produção das curvas analíticas, foi necessária avaliação dos dados obtidos para exclusão de amostras inadequadas, e garantir maior qualidade dos resultados.

4.1.1 Fosfato

Para o íon fosfato, buscando-se a maior sensibilidade do eletrodo, foi testado um espectro de amostras espaçadas entre as concentrações de 0,075 e 0,300 mmol L⁻¹, identificado com base no resultado da otimização de sua faixa de detecção. As amostras apontadas tiveram concentração de 0,05 a 0,175 mmol L⁻¹, e a curva analítica por elas produzida está descrita na Eq. III, onde *Cond* indica condutividade em ADC reading, e *Conc* indica concentração, em mmol L⁻¹.

Equação III:

$$Cond (ADC \text{ reading}) = 2,49 \times 10^6 Conc (mmol L^{-1}) + 8,49 \times 10^5$$

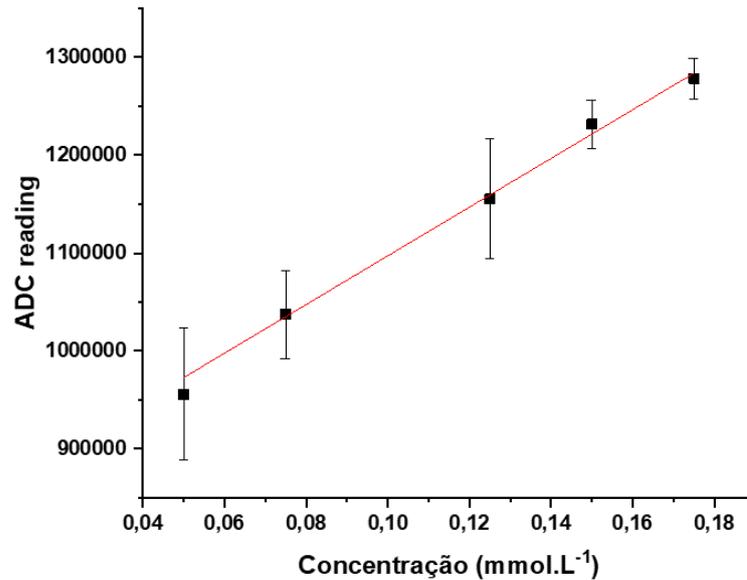


Figura 9. Curva analítica para o íon fosfato, com desvio padrão associado (barras de erro verticais), e regressão linear (vermelho), de acordo com a Eq. III.

Como se observa na Figura 9, a curva analítica gerada para o íon fosfato foi bastante satisfatória, dado o valor do coeficiente de determinação, ou R^2 , anotado em 0,9962. Esse parâmetro é fundamental, pois indica que o modelo de curva produzido (linear) representa em excelente proporção o comportamento dos dados obtidos, conferindo bastante acurácia à calibração, e foi tido como satisfatório quando acima de 0,990. Além disso, é necessário novamente observar que, como esperado, há um padrão de crescimento positivamente dependente na curva, onde a condutividade da solução de fato aumenta conforme o aumento da concentração do analito. A sensibilidade de eletrodo para o íon fosfato, calculada pela razão da inclinação de reta da curva de calibração sobre a área do eletrodo (0,4 cm x 0,6 cm), anotada no valor de $1,04 \times 10^7 \text{ L mmol}^{-1} \text{ cm}^{-2}$, foi dada satisfatória.

4.1.2 Potássio

Para o íon potássio, a faixa de concentrações investigada foi de 0,075 a 0,300 mmol L⁻¹). Os resultados deste teste foram bastante próximos ao esperado, dado que grande parte das amostras testadas para o conjunto demonstraram comportamento estável e linear. Além disso, os desvios padrão calculados para as medições do conjunto de amostras foi adequado, refletindo em baixa porcentagem de erro (contida abaixo de 5,00% para todas as amostras do conjunto), e, portanto, boa confiabilidade para a calibração.

Equação IV:

$$\text{Cond (ADC reading)} = 1,58 \times 10^6 \text{ Conc (mmol L}^{-1}\text{)} + 8,52 \times 10^5$$

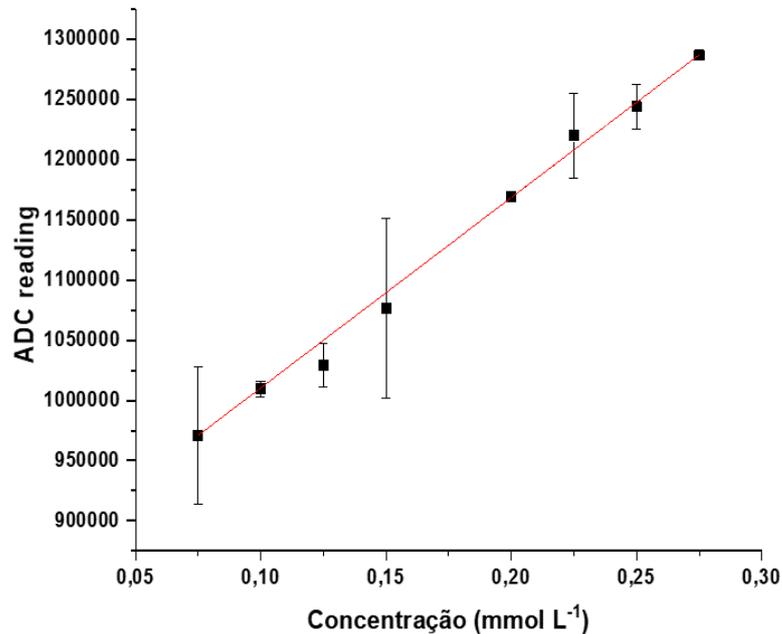


Figura 10. Curva analítica para o íon potássio, com desvio padrão associado (barras de erro verticais), e linha de tendência (vermelho) conforme Eq. IV.

Assim como foi para o íon fosfato, a curva produzida para o íon potássio também foi satisfatória (Figura10). O valor anotado de 0,9996 do coeficiente de determinação é bastante interessante, dada sua indicação de que esta curva representa de maneira extremamente fiel o comportamento das amostras testadas neste espectro de concentração, e a sensibilidade do eletrodo nesta faixa, para o íon potássio. O crescimento da curva foi, como esperado, bastante linear e estável, sendo a sensibilidade do eletrodo para o íon potássio registrada em $6,59 \times 10^6 \text{ L mmol}^{-1} \text{ cm}^{-2}$, cerca de 1,6 vezes menor que a sensibilidade anotada para o íon fosfato.

4.1.3 Amônio

O teste em C⁴D para padrões contendo íon amônio apresentou particularidades antes não vistas nos testes realizados para as amostras de íons fosfato e potássio. As amostras de concentração entre 0,01 e 0,05 mmol L⁻¹, significativamente mais baixas que as faixas identificadas para os outros íons, exprimiram um bom padrão de resposta concentração/condutividade, indicando que, para este íon, faixas mais baixas de concentração devem ser mais apropriadas para sua calibração.

Equação III:

$$\text{Cond (ADC reading)} = 2,69 \times 10^5 \text{ Conc (mmol L}^{-1}\text{)} + 2,67 \times 10^4$$

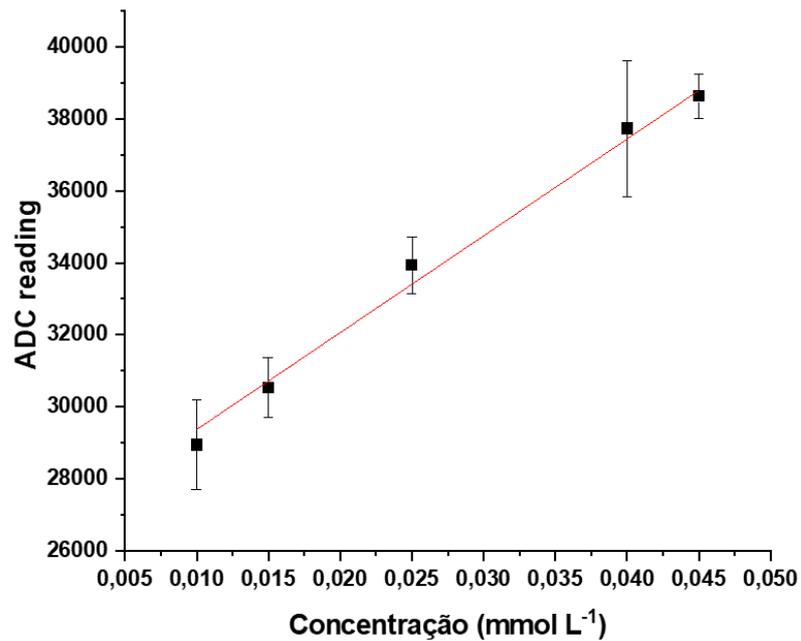


Figura 11. Curva analítica para o íon amônio, com desvio padrão associado (barras de erro verticais), e linha de tendência (vermelho) conforme Eq. III.

Assim como para os íons anteriormente testados, a curva de calibração para o íon amônio foi satisfatória, tendo em vista o valor de coeficiente de determinação anotado em 0,9924 (Figura 11). Como já discutido, este valor é admitido como ótimo, já que reflete bem o comportamento dos dados na curva, conferindo precisão e maior confiabilidade na calibração do eletrodo. Novamente, a correlação positiva e linear da curva era esperada, e é refletido pela sensibilidade do eletrodo para o íon amônio, anotada em $1,12 \times 10^6 \text{ L mmol}^{-1} \text{ cm}^{-2}$, menor que os demais íons.

Contudo, não se pode afirmar que os resultados obtidos para esse íon foram ideais. Os valores de porcentagem de erro associada aos desvios padrão das amostras deste teste não foram homogêneos. Apesar de nenhuma amostra utilizada na produção da curva de calibração ter porcentagem de erro inadequada, a baixa uniformidade encontrada para este parâmetro no conjunto de amostras revela a falta de estabilidade na detecção para o amônio em particular, já que este comportamento não foi observado para os íons anteriores.

Embora as razões para este comportamento não sejam evidentes, há a possibilidade destes resultados serem explicados pelo preparo de soluções, dado que concentrações tão baixas tornam mais drásticos os efeitos de erros ocorridos durante manipulação de pipetas e diluições, por exemplo.

4.2 Repetibilidade, Reprodutibilidade, LOD e LOQ

Tendo em mãos as curvas de calibração produzidas para os íons fosfato, potássio e amônio, outros parâmetros importantes deveriam ser aferidos: repetibilidade, reprodutibilidade, LOD e LOQ. De modo geral, esses parâmetros servem para traduzir numericamente a confiabilidade do teste para os três diferentes íons em um mesmo eletrodo, e também em eletrodos diferentes, assim como dimensionar os mínimos valores de analito que este pode detectar/quantificar. Isso garante que haja precisão na medição de grupos de amostras diversas, bem como boa sensibilidade e segurança do eletrodo para os dados produzidos.

4.2.1 Repetibilidade

Para a obtenção do parâmetro de repetibilidade, escolheram-se amostras de concentração intermediária na curva de calibração dos íons, e que idealmente estivessem próximas da linha de tendência, sendo, portanto, amostras com comportamento bem definido pela curva. As concentrações escolhidas para cada íon foram: 0,125 mmol L⁻¹ para o fosfato, 0,20 mmol L⁻¹ para o potássio, e 0,035 mmol L⁻¹ para o amônio, que foram então testadas para aferir a repetibilidade do eletrodo proposto. Foram selecionadas seis medidas para cada íon ($n=6$). Este número foi assim determinado por ser o suficiente para manter a veracidade do teste, ao mesmo tempo que garantindo também a qualidade do resultado.

Analito	Condutividade média (ADC reading)	Desvio Padrão	Desvio Padrão Relativo (%)
Fosfato 0,125 mmol L ⁻¹	1,76 x 10 ⁵	6,63 x 10 ²	0,38
Potássio 0,20 mmol L ⁻¹	2,15 x 10 ⁵	5,44 x 10 ²	0,25
Amônio 0,035 mmol L ⁻¹	1,16 x 10 ⁵	8,02 x 10 ²	0,69

Tabela 1. Dados de condutividade média, desvio padrão e porcentagem de erro, soluções de padrões selecionados para os íons fosfato, potássio e amônio, para o teste de repetibilidade.

Calculados o desvio padrão das amostras escolhidas e a porcentagem de erro associada (Tabela 1), observa-se que os dados produzidos foram bastante satisfatórios: para os três íons, o desvio padrão relativo foi baixo, sendo que nenhum ultrapassou a marca de 0,70%. Esses valores são reflexo de grande adequação do desvio padrão das medições, indicando, por sua vez, confiabilidade entre as medições

de cada amostra, dado que há pouca variação entre medidas para um mesmo eletrodo. Determinou-se, assim, que repetibilidade associada ao teste em C⁴D para estes íons foi adequada, denotando estabilidade do equipamento, do eletrodo, e das variações inerentes entre medidas, como volume pipetado.

4.2.2 Reprodutibilidade

O teste de reprodutibilidade visa melhor entender como se comportam as amostras de um íon, em mesma concentração, quando medidas em eletrodos diferentes. Fazendo-se cinco medições para os três íons, em três eletrodos diferentes, pode-se ter, ou não, a certeza de que o comportamento demonstrado por um íon testado não é influenciado pela sensibilidade de um eletrodo específico, e que a precisão do teste deve ser mantida mesmo em eletrodos diversos.

Amostra	Condutividade média (ADC reading)	Desvio Padrão	Desvio Padrão Relativo (%)
Fosfato 0,125 mmol L ⁻¹	7,05 x 10 ⁴	2,58 x 10 ³	3,66
Potássio 0,20 mmol L ⁻¹	7,28 x 10 ⁴	2,27 x 10 ³	3,12
Amônio 0,035 mmol L ⁻¹	7,69 x 10 ⁴	3,07 x 10 ³	3,99

Tabela 2. Dados de condutividade média, desvio padrão e porcentagem de erro, de soluções padrão selecionadas dos íons fosfato, potássio e amônio, para o teste de reprodutibilidade.

Os valores de desvio padrão encontrados para este teste, como evidenciado pela porcentagem a ele associada, foram aceitáveis (Tabela 2). Isso indica que, mesmo medindo-se as amostras em eletrodos diferentes, existe um bom grau de concordância associado à realização do método para os íons de interesse, fornecendo, mais uma vez, segurança e confiabilidade para os dados obtidos, e, portanto, boa reprodutibilidade para o teste C⁴D com os eletrodos produzidos.

4.2.3 Limites de Detecção e Quantificação

O parâmetro LOD serve para determinar qual a menor concentração de amostra que pode ser distinguida de zero, ou branco, em um teste. Ou seja, mede a menor quantidade possível de analito que pode ser detectada, despertando um sinal diferente de nulo (TÓTH et al., 2004). Seria dado como sem sucesso caso o valor obtido de LOD para cada íon fosse maior do que o valor mais baixo de concentração utilizado para a produção das curvas de calibração, significando inconsistência do

método, ou também caso se fizesse necessária a detecção dos íons em concentração menor do que a detectável pelo método.

Amostra	Condutividade média (ADC reading)	Desvio Padrão	Desvio Padrão Relativo (%)
Água ultrapura (branco)	$1,10 \times 10^5$	$4,53 \times 10^2$	0,41

Tabela 3. Dados de condutividade média, desvio padrão e porcentagem de erro, para medições da amostra de concentração zero (branco/água ultrapura), para o teste de limite de detecção.

A repetibilidade do eletrodo com amostras de branco (água ultrapura), importante para o cálculo de LOD, obteve ótimo resultado, ao julgar pela porcentagem de erro medida em 0,41% (para 6 medições) (Tabela 3). Assim, conhecendo os valores de inclinação de reta de cada curva de calibração, foi possível calcular os limites de detecção e quantificação (Tabela 4) para cada íon.

Íon	Inclinação da curva analítica	Limite de Detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Limite de Quantificação ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
Fosfato	$2,49 \times 10^6$	0,55	1,82
Potássio	$1,58 \times 10^6$	0,86	2,86
Amônio	$2,69 \times 10^5$	5,05	16,8

Tabela 4. Inclinação da reta da curva analítica, limite de detecção e quantificação, para os íons fosfato, potássio e amônio.

Quanto ao LOD, há uma observação clara a ser feita: os valores obtidos deste parâmetro para os íons fosfato e potássio são significativamente menores (cerca de cem vezes) do que o encontrado para o íon amônio. A razão para isso pode ser atribuída principalmente aos valores observados de inclinação de reta, que foram cerca de dez vezes maiores para a curva de calibração do fosfato e potássio, em relação ao amônio (Tabela 4).

O parâmetro de LOQ se assemelha bastante ao LOD. Porém, este descreve a menor concentração que pode ser quantificada para um método, enquanto que para o LOD, a concentração encontrada não precisa ser necessariamente a menor quantificável, mas sim a menor detectável. Como esperado, o valor de limite de quantificação para o íon amônio também foi maior que os valores encontrados para o mesmo parâmetro nos íons fosfato e potássio. Dada a similaridade nos cálculos, as

razões para a diferença observada devem ser atribuídas às mesmas já discutidos para o LOD.

Ainda assim, os valores anotados de LOD pra os três íons, por serem menores do que os valores mais baixos de concentração utilizados nas produções das curvas de calibração, estão adequados para a proposta apresentada deste trabalho. Deve-se observar também que os limites detectáveis destes íons pelo eletrodo são preditos como seguramente menores que os valores a serem encontrados em amostras reais de solo. Para os íons fosfato, potássio e amônio, respectivamente, valores médios encontrados em extratos de solo giram em torno de 1 - 50 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, 100 - 4000 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, e 100 - 2000 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, concentrações significativamente maiores que as quantificáveis com o eletrodo proposto (BARBER, 1995). Com isso, conclui-se que os parâmetros de LOD e LOQ foram determinados satisfatórios para os íons fosfato, potássio e amônio sob a técnica de detecção C⁴D.

4.3 Determinação de misturas dos íons com complexantes éter 18-coroa-6 e MgO

4.3.1 Resultados iniciais: testando adequação do protocolo

Para o objetivo proposto neste trabalho de investigar quantitativamente, com o uso do eletrodo de alumínio desenvolvido, a presença dos íons fosfato, potássio e amônio em amostras de solo, através de C⁴D, é fundamental que seja testada, em primeiro lugar, a capacidade do método de quantificar tais íons em soluções onde haja a mistura dos analitos de interesse, não somente em soluções padrão isoladas. Devido ao carácter de detecção universal do C⁴D, tentativas foram propostas para o desenvolvimento de protocolos para a investigação individual de cada íon em mistura, com o uso dos complexantes éter 18-coroa-6 e MgO, reagentes já descritos em reações de complexação com os íons propostos (ULUDAG-DEMIRER; OTHMAN, 2009)(OZUTSUMI; ISHIGURO, 1992).

Em um primeiro momento, o seguinte delineamento experimental foi montado e testado: uma mistura dos íons (M), em concentração 0,125 mmol.L^{-1} para o fosfato, 0,020 mmol.L^{-1} para potássio, e 0,035 mmol.L^{-1} para o amônio (mesmas concentrações dos testes de repetitividade e reprodutibilidade, centrais em suas respectivas curvas analíticas) foi testada, ora adicionada de MgO, ora de éter 18-

coroa-6 (ambos em concentração $0,275 \text{ mmol L}^{-1}$), e ora com os dois, além de uma amostra de água (branco) (figura 12).

A adição de MgO à mistura foi feita visando testar a complexação dos íons fosfato e amônio, que em teoria possibilitaria a medição do sinal correspondente somente ao íon potássio em solução. Similarmente, a adição de éter 18-coroa-6 é feita visando reação com íons potássio e amônio, possibilitando medição do sinal isolado de fosfato em solução, que por sua vez daria acesso ao cálculo do sinal correspondente ao amônio na mistura, tendo medido o sinal total da mistura de íons (sem quaisquer reagentes).

A concentração proposta para os reagentes complexantes, $0,275 \text{ mmol L}^{-1}$, foi assim determinada por ser o maior valor de concentração em quaisquer curvas analíticas dos três íons, e, portanto, esperava-se testar se esta quantidade seria suficiente para que as reações de complexação acontecessem, dado que se conhecem também as concentrações dos íons na amostra da mistura.

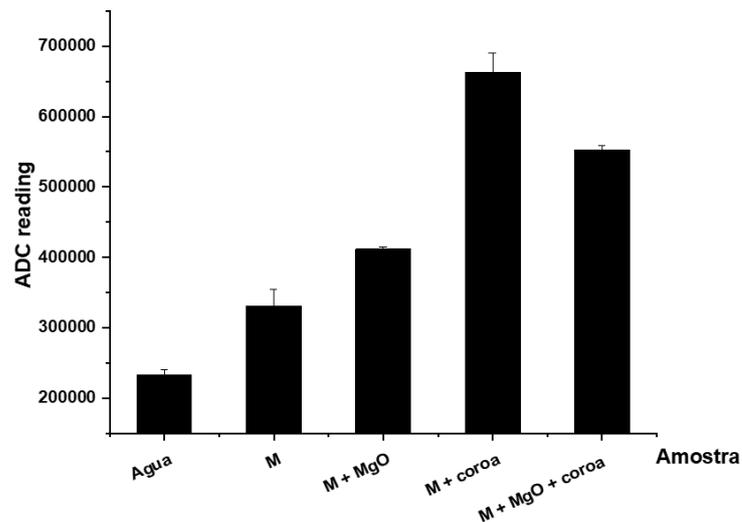


Figura 12. Teste em C^4D para amostras de mistura dos íons fosfato, potássio e amônio (identificada como M), adicionada dos reagentes MgO, éter 18-coroa-6, e ambos, respectivamente (além da amostra de água ultrapura, branco). *FONTE:* desenvolvido pelo autor.

Esperava-se encontrar uma redução da condutividade para as amostras da mistura de íons M quando adicionada dos reagentes complexantes em relação ao sinal somado de suas soluções isoladas, significando que houve sucesso na captura dos íons, eliminando suas cargas e diminuindo sua condutividade. Isso possibilitaria a manipulação matemática dos sinais observados para atribuir a cada íon um valor de condutividade, e, portanto, concentração (com o uso das curvas analíticas).

Entretanto, isso não aconteceu do modo esperado: a amostra correspondente à mistura dos íons teve condutividade medida bem abaixo das demais, com a adição de reagentes. Além disso, a amostra com a adição de ambos os complexantes teve condutividade observada bastante acima dos demais, com exceção da amostra de M adicionado do éter 18-coroa-6 (de maior condutividade anotada), novamente não corroborando para o delineamento experimental originalmente esperado. Assim, tornou-se imperativo investigar o comportamento de cada íon separadamente, quando expostos a cada um dos reagentes complexantes, também separadamente.

4.3.2 Fosfato, potássio e amônio em diferentes concentrações das curvas analíticas

Decidiu-se, então, testar o comportamento de cada íon e cada reagente mais profundamente, comparando soluções de concentrações diversas do íon quando expostas aos complexantes. Em um primeiro momento, cada íon foi testado em três concentrações distintas, determinadas com base em suas curvas analíticas, sendo elas uma concentração baixa, uma intermediária e uma mais alta. Essas amostras seriam então acrescidas do reagente precipitante, em mesma concentração ($0,275 \text{ mmol L}^{-1}$), para se observar qual impacto a concentração do íon pode exercer sobre a condutividade percebida, após mistura. Isso se faz pertinente pelo fato de que, dada aplicação visada para o dispositivo, não se pode prever a concentração do íon que será encontrada em amostras reais extraídas de solo, e, portanto, deve-se conhecer o comportamento do eletrodo para quaisquer um dos íons NPK em concentrações distintas.

Contudo, algo importante foi observado. Para todas as curvas onde era esperada alguma interação entre o íon e o precipitante, criou-se um comportamento de platô para as amostras onde há adição do precipitante e íon. A este comportamento pode ser atribuída uma possível causa: a saturação da solução da mistura para as concentrações testadas, resultando, em teoria, em um sinal de condutividade menos sensível, e, portanto, menos representativo da real manifestação da adição dos íons e precipitantes. Por esse motivo, decidiu-se testar qual seria a resposta destas combinações quando performadas em concentrações mais baixas dos íons em solução, com os reagentes complexantes MgO e éter 18-coroa-6 também em concentrações mais baixas.

4.3.3 MgO

Assim como anteriormente proposto, para investigar a saturação do sinal analítico foram produzidas soluções com diferentes combinações de cada íon e reagente complexante, em concentração mais baixa. Escolheu-se a concentração de $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$, tanto para os íons, quanto para os complexantes, estimada nesse valor com base nas curvas analíticas. Além disso, para cada íon e complexante foram produzidas uma solução contendo um íon adicional, ora esperando verificar reação com o agente complexante testado, ora não. A razão disso foi averiguar o comportamento do sinal-resposta mediante a adição de íons que deveriam causar complexação, esperando observar um decréscimo no sinal percebido de condutividade, devido à diminuição das cargas. Do contrário, ao adicionar um íon que sabidamente não se complexaria, esperava-se observar um acréscimo de sinal. Assim, seria possível concluir qual o nível de adequação do método para a detecção individual dos íons com o uso de MgO e éter 18-coroa-6.

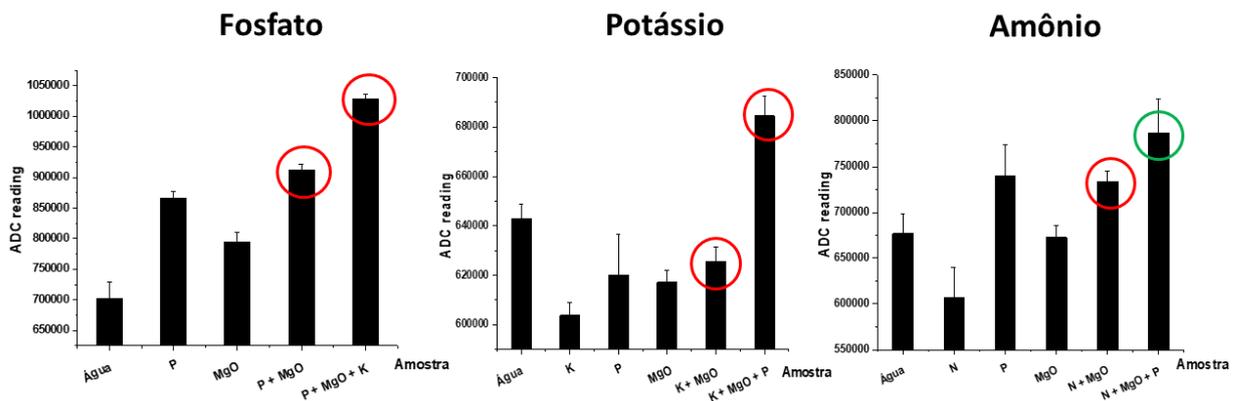


Figura 13. Teste em C^4D para avaliar saturação das soluções de íons NPK e MgO. Coordenação de cores: pontos circulados em verde são aqueles em que se esperava encontrar complexação, e, portanto, diminuição de condutividade. Pontos em vermelho são aqueles em que não se esperava complexação, devendo ocasionar aumento no sinal percebido. Pontos sem círculos correspondem a soluções isoladas de cada composto. *FONTE:* desenvolvido pelo autor.

A realização do teste para os íons NPK com o MgO (figura 13) foi pouco ilustrativa, apesar dos resultados observados terem demonstrado conformidade com o esperado. No teste com o fosfato (esquerda), sem a presença de amônio para a formação de MAP, não se esperava reação entre o íon fosfato e MgO, e, portanto, deveria ocorrer aumento no sinal. Isso se comprovou. Além disso, ao adicionar potássio, que também não se esperava complexar com MgO, observou-se aumento notável no sinal, embora este aumento no sinal não pareça corresponder a uma adição linear em valores de condutividade das soluções isoladas.

Para o potássio-MgO (centro), na presença ou ausência de fosfato, não se esperava quaisquer reações de complexação, e assim, os sinais deveriam sofrer um aumento, sendo este aumento maior para a última solução, como realmente ocorreu, apesar de apenas ligeiro (compreensível, dado o sinal bastante discreto da solução de potássio isolado). Por fim, para os testes de combinação do íon amônio com MgO (direita) em concentração $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$, observou-se novamente um aumento de sinal (na ausência de fosfato) devido à falta de reação. Os testes de combinação amônio-MgO-fosfato não foram esclarecedores: esperava-se uma diminuição do sinal na formação do complexo MAP com a adição de fosfato ao complexo amônio-MgO, o que não aconteceu, pelo contrário, o sinal acabou por ser o mais elevado do conjunto.

Assim, baseado na falta de diferenças de condutividade medida, não se pôde obter, até então, sucesso no uso do reagente MgO para a complexação dos íons amônio e fosfato. Apesar disso, o acréscimo de sinal para as amostras onde não deveria haver formação de MAP fornece a comprovação de que o trabalho de sua combinação com íons NPK na faixa de concentrações proposta demonstra boa sensibilidade de detecção do sistema, sem a ocorrência de saturações.

4.3.4 Éter 18-coroa-6

Para o complexante 18-coroa-6, entretanto, os resultados dos testes com íons NPK, separadamente, em concentração $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$ foram mais otimistas (figura 14). O teste do fosfato com o éter 18-coroa-6 foi coerente: a combinação destes (teoricamente não resulta em complexação) demonstrou acréscimo ligeiro de sinal. A última solução do conjunto apresentou, contudo, uma incoerência. Da solução final, onde é adicionado potássio à mistura, esperava-se um acréscimo ligeiro no sinal em relação à solução anterior, dada a complexação teórica entre o íon e a coroa, que ocasionaria soma apenas parcial do sinal do íon potássio. Isso não aconteceu, e do contrário, o sinal subiu consideravelmente, indicando possivelmente que a complexação (nestas condições) não ocorreu, ou pelo menos não com a intensidade esperada.

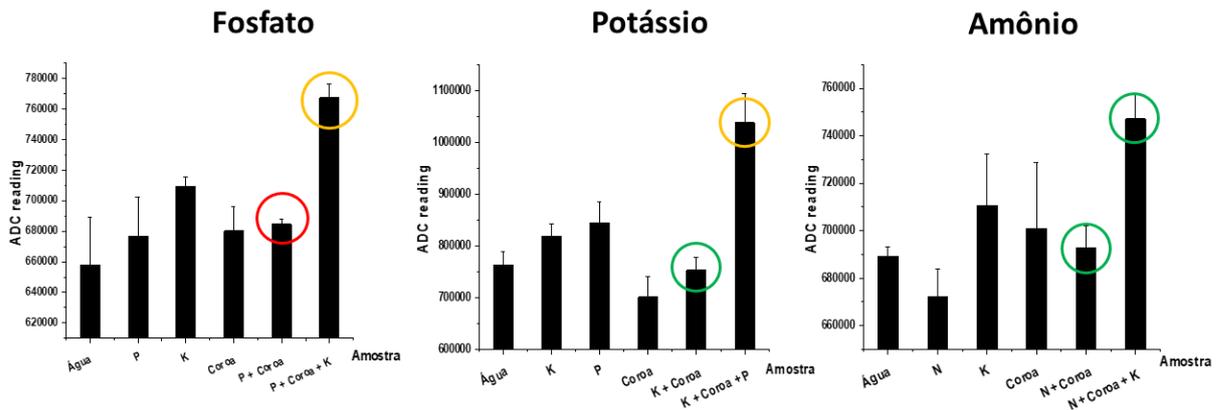


Figura 14. Teste em C⁴D para avaliar saturação das soluções de íons NPK e éter 18-coroa-6. Coordenação de cores: pontos circulados em verde são aqueles em que se esperava encontrar complexação, e, portanto, diminuição de condutividade. Pontos em vermelho são aqueles em que não se esperava complexação, devendo ocasionar aumento no sinal percebido. Pontos em amarelo correspondem àqueles em que um dos íons adicionados deveria se complexar, mas o outro não. Pontos sem círculos correspondem a soluções isoladas de cada composto. *FONTE:* desenvolvido pelo autor.

Para o potássio os resultados foram bastante encorajadores. No teste do potássio com coroa, esperava-se que reagissem quando combinados, mas a adição de fosfato (que não reage neste cenário) deveria causar aumento do sinal. Como previsto, a amostra correspondente ao complexo potássio-coroa apresentou diminuição de sinal em relação à solução isolada do potássio, indicando captura (parcial) das cargas do íon, enquanto que a adição de fosfato ao complexo ocasionou acréscimo notável de condutividade.

Também, para os testes de combinação do íon amônio com os complexantes em concentração $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$, observou-se o que era esperado: para o amônio com coroa, nota-se uma diminuição do sinal. Embora o sinal do complexo amônio-coroa tenha sido maior que o do íon isoladamente, ele foi menor do que o do coroa isolado, significando ao menos que parte do coroa se complexou com o amônio. Os testes de combinação amônio-coroa-potássio, entretanto, foram menos esclarecedores. Por também ser complexado pela coroa, da adição de potássio ao conjunto amônio-coroa naturalmente esperava-se uma diminuição do sinal, ao menos parcial. Contudo, essa expectativa é equivocada, já não leva em consideração a saturação do éter na solução, que provavelmente não existia em quantidade suficientemente disponível para a saturação de ambos os íons.

Por conta dos resultados obtidos do uso de coroa em combinação com os íons NPK isoladamente, coerentes e promissores, decidiu-se continuar investigando a capacidade complexante deste reagente com os íons amônio e potássio, em

combinações distintas. Desta vez, adotou-se o seguinte modelo: a soluções dos íons, N e K, em concentração fixa, seria adicionado o complexante coroa em concentrações crescentes, até a concentração final do íon. A condutividade de cada adição seria aferida, buscando observar uma queda progressiva de sinal, conforme se equiparam as concentrações de complexantes e íons, ou seja, um modelo para assertivamente confirmar a redução de cargas em solução com o uso deste complexante. As concentrações escolhidas foram de $0,075 \text{ mmol L}^{-1}$ para os íons, e $0,025$, $0,05$ e $0,075 \text{ mmol L}^{-1}$ para o coroa, determinadas com base no teste anterior, a fim de evitar saturação do sinal (figura 15).

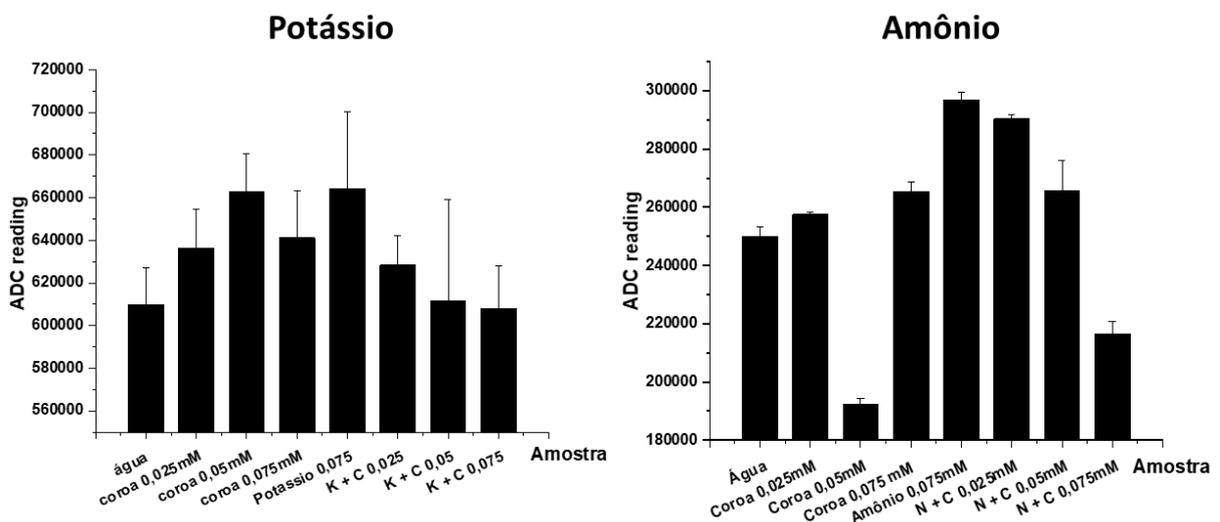


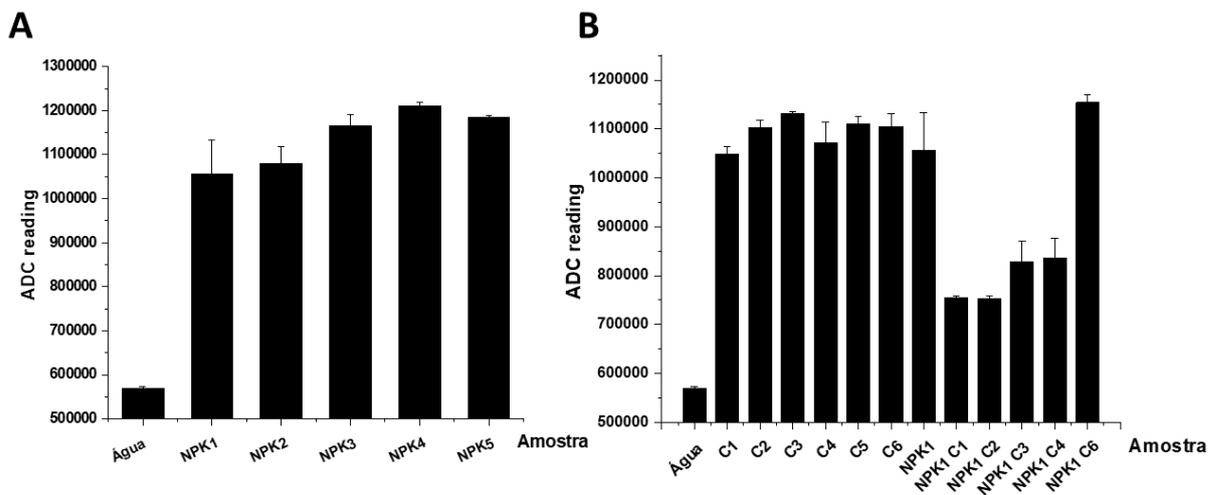
Figura 15. Teste de coroa em concentrações crescentes com os íons potássio (K) e amônio (N) em concentração fixa. Para ambos os testes são apresentados, da esquerda para a direita: água, coroa $0,025$, $0,05$, $0,075 \text{ mmol L}^{-1}$, íon $0,075 \text{ mmol L}^{-1}$, e combinações do íon com cada concentração de coroa. *FONTE:* desenvolvido pelo autor.

Da figura 15 deve ser notado: para ambos potássio e amônio, existe clara decaída progressiva do sinal, em relação ao sinal isolado do íon, conforme se adicionam concentrações crescentes de coroa nos íons em concentração fixa, comprovando a ocorrência de complexação e captura de cargas, nestas condições. Deve ser notado também, entretanto, a ocorrência de soluções fora do padrão, no caso a solução de coroa $0,075 \text{ mmol L}^{-1}$ para o teste do potássio, e a solução de coroa $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$, que exprimiram valor de condutividade mais baixo do que o esperado pela progressão de concentrações. Esse fenômeno, embora dificilmente rastreável, pode ser ligado à ocorrência de erros no preparo de soluções ou aplicação de amostras na realização do teste. Há também outra observação pertinente: apesar de visivelmente insinuante, os valores de desvio padrão para o teste do coroa com

potássio foram aceitáveis (contidos abaixo de 5%), sendo o efeito explicado pela proximidade dos valores de condutividade anotados para o conjunto.

4.3.5 NPK e coroa: avaliando ponto de turnover da complexação

Dada a constatação de que a complexação com o reagente coroa acontecia de maneira regular para os íons amônio e potássio, e que evidências dessa complexação foram observadas, desenhou-se o seguinte planejamento experimental: o teste da mistura dos íons fosfato, potássio e amônio (NPK), em concentrações distintas e crescentes (contidas na faixa de $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$, ainda visando evitar a saturação do sinal analítico), com soluções de concentração crescente de coroa, nesta mesma faixa (figura 16) (acrescida de uma amostra a $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$, para averiguar os efeitos do excesso de complexante). Pretendia-se, com isso, combinar soluções em concentrações distintas de NPK com um espectro mais abrangente de concentrações de coroa, e avaliar, desta maneira, se existe um ponto de virada, onde a complexação dos íons não pode mais acontecer, e o coroa remanescente torna a aumentar o valor de condutividade da solução. Este ponto, chamado de *turnover*, indicaria qual a proporção de reagente e íons onde observa-se diminuição do sinal analítico, e em qual magnitude, além de confirmar que o coroa remanescente, após complexação, contribuiria novamente para o aumento de condutividade da solução, dando evidências para adequação de seu uso no protocolo proposto.



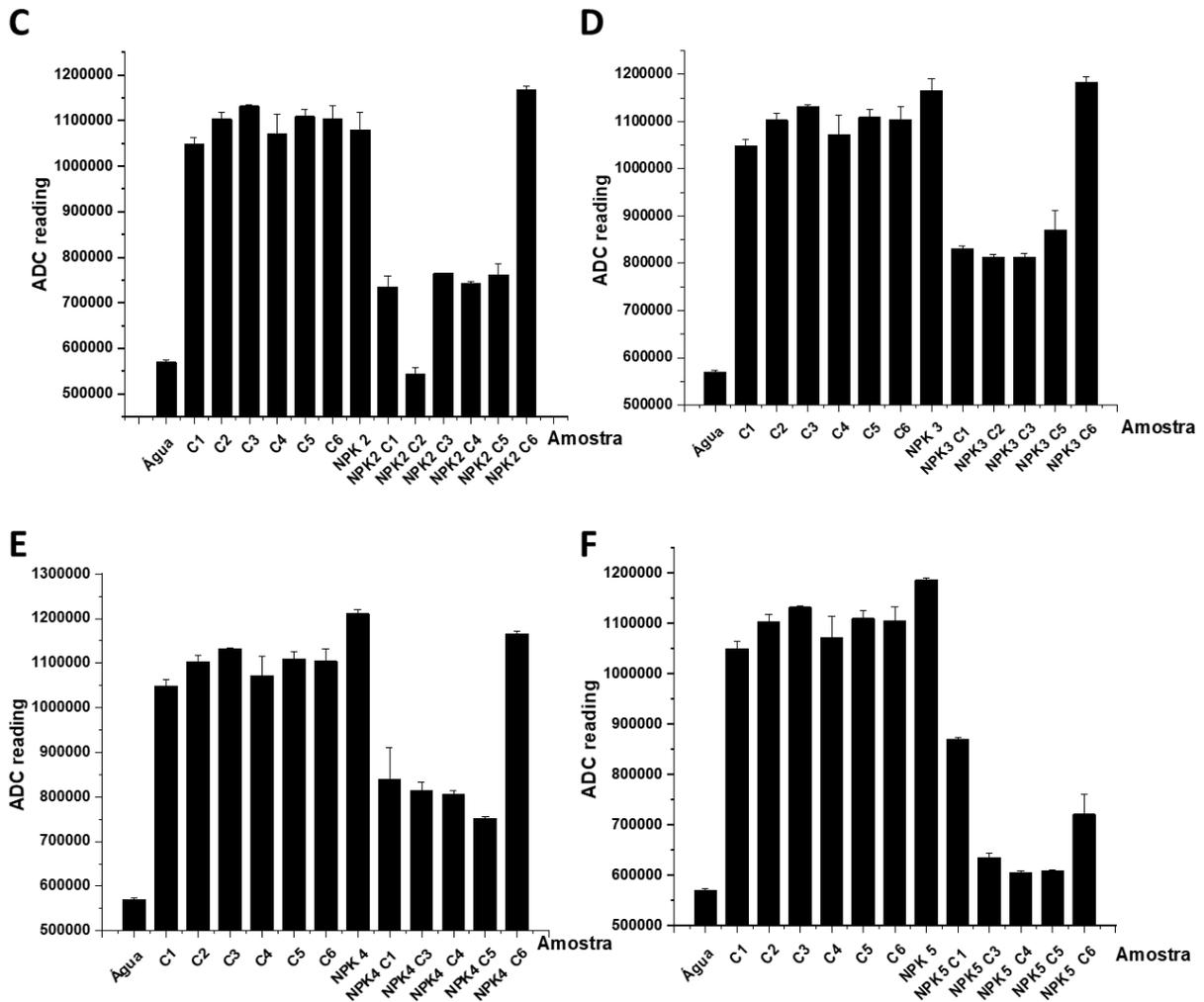


Figura 16. Testes de combinação de NPK e éter 18-coroa-6. **A.** Soluções padrão de NPK, sem coroa, em concentrações crescentes (além de amostra de água ultrapura, branco, à direita), onde NPK1 a 5 representam respectivamente 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 mmol L⁻¹. **B-F.** Testes de NPK1 a 5, respectivamente, com a adição de coroa em seis concentrações distintas (0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 e 0,1 mmol L⁻¹) representadas por C1 a C6. **FONTE:** desenvolvido pelo autor.

A realização deste teste forneceu importantes constatações. Para todos os testes, a adição de coroa causa, em algum nível, uma depreciação significativa de sinal, e aparente existe um ponto para todos onde a combinação de coroa, embora em concentrações crescentes, com os íons NPK torna a aumentar a condutividade da solução. Em primeiro lugar, como se observa em 16.A, a produção de soluções em concentrações crescentes propostas para os íons NPK (NPK 1 a 5) demonstrou, como esperado, crescimento estável e linear, comprovando a qualidade de detecção pelo método e a adequação no preparo de soluções.

Também, algo interessante de se notar é que o ponto de *turnover* no sinal parece acontecer sempre na janela onde a concentração de coroa supera a concentração dos íons NPK na solução. Isso pode ser observado, com exceção de poucas soluções

fora de padrão (*outliers*), em todos os testes: a adição de coroa em concentrações inferiores ou iguais à dos íons NPK causa clara e progressiva diminuição de condutividade, mas passa, a partir deste ponto, a aumentar o sinal analítico de modo significativo. Esta conclusão é importante por indicar inversamente que, em determinado nível, a descoberta de concentração de soluções NPK é possível através da identificação do ponto de turnover com éter 18-coroa-6, adicionado controladamente e com concentrações conhecidas.

4.4 Monitoramento de parâmetros: Amplitude e Frequência

Paralelamente ao período inicial de testes com reagentes MgO e éter 18-coroa-6 para a detecção individual do sinal de condutividade dos íons NPK em mistura, decidiu-se testar uma outra abordagem. Foi proposto que se revisitasse a padronização dos parâmetros de amplitude e frequência do sinal senoidal fornecido pelo gerador de funções, desta vez de maneira individual para cada íon. Com isso, pretendia-se averiguar se a faixa ideal de detecção de cada um (onde o eletrodo fosse mais sensível) aconteceria em combinações distintas destes parâmetros, até então mantidos em 0,75V (amplitude) e 400kHz (frequência) para quaisquer testes produzidos, dada padronização previamente realizada com o dispositivo pelo grupo de pesquisa. Caso isso se confirmasse, uma abordagem interessante para a detecção dos íons isoladamente em amostra poderia ser proposta, através da adequação do *setup* experimental. O resultado deste teste foi a produção de uma superfície tridimensional (*3D colormap*, ou *3D mapping*) para os valores correspondentes de condutividade (ADC reading), mediante combinações distintas de amplitude e frequência, para cada um dos três íons, que pode também ser visualizada como mapa de calor bidimensional.

Para a realização deste teste, foram utilizadas soluções em mesma concentração para os três íons, garantindo que diferenças, se observadas, na sensibilidade do eletrodo não seria advinda da diferença de cargas em solução. Foi selecionada a concentração de 0,050 mmol L⁻¹, por ser considerada intermediária no espectro abrangido pelas curvas analíticas em conjunto. Os resultados apresentados, contudo, não foram otimistas para a proposta: observou-se que, em mesma concentração, não existem diferenças significativas no perfil de condutividade medida, mediante diferentes combinações de amplitude e frequência para os íons fosfato, potássio e amônio (Figura 17). Isso implica que não foram encontradas faixas ótimas distintas de

detecção para cada um, que poderiam levar a adequação do protocolo e montagem de um método para detecção individual destes, sem etapas adicionais com o uso de reagentes. Assim, descartou-se essa hipótese de trabalho, e devolveu-se o foco ao trabalho com os reagentes complexantes anteriormente propostos.

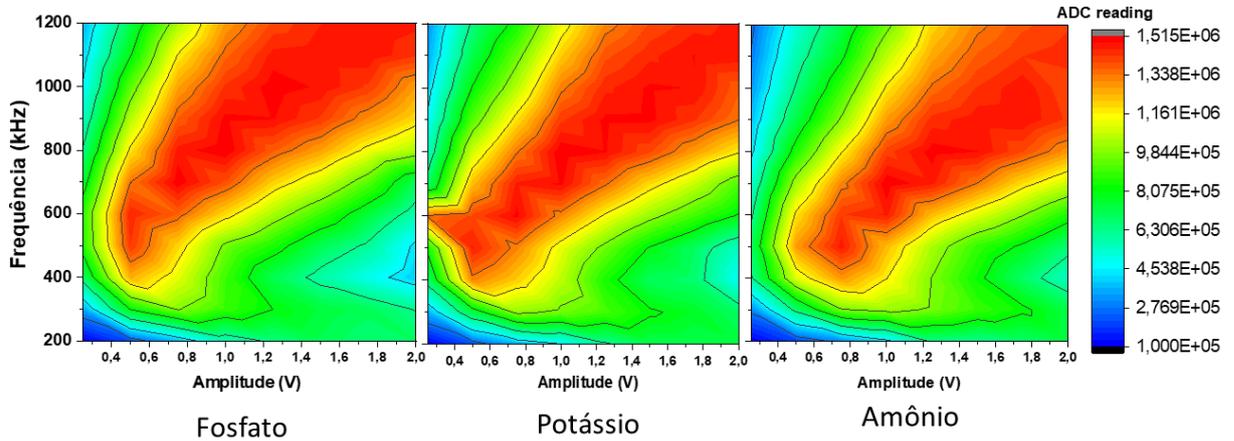


Figura 17. Teste de monitoramento de condutividade mediante combinações dos parâmetros de amplitude (x) e frequência (y) para soluções dos íons fosfato, potássio e amônio, todos na concentração $0,050 \text{ mmol L}^{-1}$, denotando grande similaridade nos perfis de calor observados. *FONTE:* produzido pelo autor.

5. Conclusões

Dada a escala de impacto socioeconômico, bem como necessidade, de análises químicas para amostras de solo, em especial no contexto brasileiro, é de fundamental importância que se desenvolvam métodos de detecção mais acessíveis, e que possibilitem análises mais dinâmicas, personalizadas e baratas. O uso de técnica de C⁴D para análises de macronutrientes em solo possui todas as ferramentas para suprir tais necessidades: a produção de eletrodos metálicos com a técnica de máscaras vezadas se mostrou bastante eficiente, com grande capacidade de escalonamento e boa eficiência de custo de fabricação. Além disso, como demonstrado, os eletrodos produzidos possuem excelente performance em parâmetros chave, como repetibilidade, reprodutibilidade e limite de detecção, indicando boa confiabilidade e segurança em seu uso. O *setup* experimental proposto também se mostrou bastante adequado, dada sua praticidade e acessibilidade. Além disso, as curvas analíticas e repetidas análises dos íons fosfato, potássio e amônio com o uso do eletrodo, demonstraram o grande potencial do método para a detecção de NPK em soluções padrão. Até o momento, não se obtiveram resultados significativos na padronização da quantificação individual dos íons em mistura, com o uso dos complexantes MgO e 18-coroa-6, mas alguns resultados otimistas devem ser apontados. A janela de concentrações ótimas para o trabalho com as soluções dos íons parece ter sido encontrada, e as interações desejadas foram por vezes observadas. O fator determinante a ser consertado seria a estabilidade da detecção e inconsistência dos resultados, que geram concordâncias interpretativas. Embora não tenha sido suficiente para apontar novas perspectivas metodológicas para a detecção isolada de cada íon, a avaliação dos parâmetros de amplitude e frequência também foi bastante interessante. Ajudou a entender mais sobre o perfil medido de condutividade para cada íon e colocou em perspectiva o protocolo previamente estabelecido para estes parâmetros, além de confirmar a utilidade de um mesmo *setup* experimental para a determinação de NPK, descobrimento de grande relevância prática.

6. Perspectivas Futuras

Apesar do extenso progresso feito na obtenção de um processo simples e barato de produção de eletrodos metálicos para detecção de macronutrientes agrícolas com base em C^4D , há ainda muito a se desenvolver em relação à aplicabilidade e adequação do método. Os protocolos de preparação das amostras com os reagentes MgO e éter 18-coroa-6 para detecção isolada dos íons NPK em mistura ainda estão longe de concluídos: pouco consegue-se inferir sobre a performance destes reagentes como complexantes dos íons, muito menos sobre sua adequação para o processo de detecção e análise. Além disso, deve ser trabalhada ainda a possibilidade de que os reagentes propostos não sejam afinal adequados para a aplicação desejada, criando necessidade de busca por outros que possam cumprir este papel com maior eficiência. É pretendido que se dê continuidade a estes experimentos, concluindo as etapas de padronização e adequação do método para a detecção dos íons NPK isolados, com o intuito consolidar a construção e aplicabilidade do dispositivo, e idealmente gerar publicações científicas relacionadas.

O método está longe de perfeito, e apresenta algumas dificuldades fundamentais, por enquanto sem solução, mas que eventualmente deverão ser atendidas. Para que se valide a aplicação proposta, deve-se tornar possível a utilização do eletrodo para a detecção de amostras reais de solo, infinitamente mais complexas que as misturas padrão, produzidas em laboratório e utilizadas nos testes feitos até então. Diversos fatores problemáticos se apresentam entre estes dois estágios: primeiramente, dada a universalidade do método, a presença de outros componentes químicos carregados no solo além do NPK pode drasticamente influenciar a condutividade da amostra, completamente anulando a possibilidade da detecção individual destes íons com a metodologia proposta. Além disso, fatores como umidade, pH, temperatura, granulidade são todos determinantes para a condutividade do solo, e também não podem ser aferidos ou controlados pelo uso da técnica de C^4D . Todas estas etapas devem ser cumpridas e bem estabelecidas antes que se possa pensar na aplicação do dispositivo para a detecção de amostras reais de solo, objetivo final proposto para esta pesquisa.

7. Referências

- AUROUX, P. A. et al. Micro total analysis systems. 2. Analytical standard operations and applications. **Analytical Chemistry**, v. 74, n. 12, p. 2637–2652, 2002.
- BARBER, S. A. **Soil Nutrient Bioavailability: A Mechanistic Approach**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1995.
- CASARIN, V.; STIPP, S. R. Quatro medidas corretas que levam ao uso eficiente dos fertilizantes. **Informações Agronômicas N° 142**, p. 20, 2013.
- CEPEA. **PIB DO AGRONEGÓCIO BRASILEIRO**. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>>. Acesso em: 22 ago. 2021.
- CHIMENOS, J. M. et al. Removal of ammonium and phosphates from wastewater resulting from the process of cochineal extraction using MgO-containing by-product. **Water Research**, v. 37, n. 7, p. 1601–1607, 2003.
- CHOW, A. W. Lab-on-a-chip: Opportunities for chemical engineering. **AIChE Journal**, v. 48, n. 8, p. 1590–1595, 2002.
- CNA, E. **Panorama do Agro**. Disponível em: <<https://www.cnabrazil.org.br/cna/panorama-do-agro>>.
- COLTRO, W. K. T. et al. Microsistemas de análises químicas. Introdução, tecnologias de fabricação, instrumentação e aplicações. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1986–2000, 2007.
- COLTRO, W. K. T. Detecção condutométrica sem contato: uma nova ferramenta para monitoramento de interações biomoleculares em microsistemas analíticos. **Instituto de Química de São Carlos**, p. 246, 2008.
- COLTRO, W. K. T. et al. Toner and paper-based fabrication techniques for microfluidic applications. **Electrophoresis**, v. 31, n. 15, p. 2487–2498, 2010.
- COMPAGNONE, D. et al. Chemical sensors and biosensors in Italy: A review of the 2015 literature. **Sensors (Switzerland)**, v. 17, n. 4, p. 1–22, 2017.
- CONJUNTURA, N. DE. Economia Agrícola. p. 1–32, 2021.
- DE MORAES, G. M. et al. Chemical and structural characterization of soil humic substances under agroforestry and conventional systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 5, p. 1597–1608, 2011.
- DEMATTÊ, J. A. M. et al. Soil analytical quality control by traditional and spectroscopy techniques: Constructing the future of a hybrid laboratory for low environmental impact. **Geoderma**, v. 337, n. December 2017, p. 111–121, 2019.
- DITTRICH, P. S.; TACHIKAWA, K.; MANZ, A. Micro total analysis systems. Latest advancements and trends. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 12, p. 3887–3907, 2006.
- ELBASHIR, A. A.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Applications of capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection (CE-C4D) in pharmaceutical and biological analysis. **Biomedical Chromatography**, v. 24, n. 10, p. 1038–1044, 2010.
- ELBASHIR, A. A.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Recent advances in applications of capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection (CE-C4D): An update. **Biomedical Chromatography**, v. 26, n. 8, p. 990–1000, 2012.
- ELBASHIR, A. A.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Recent applications and developments of capacitively coupled contactless conductivity detection (CE-C4D) in capillary electrophoresis. **Biomedical**

Chromatography, v. 28, n. 11, p. 1502–1506, 2014.

ELBASHIR, A. A.; SCHMITZ, O. J.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Application of capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection (CE-C4D): An update. **Biomedical Chromatography**, v. 31, n. 9, 2017.

EMBRAPA. Futuro da Agricultura Brasileira. **Embrapa**, p. 212, 2018.

EVENSON, R. E.; GOLLIN, D. Assessing the Impact of the Green Revolution , 1960 to 2000 Author (s): R . E . Evenson and D . Gollin Source : Science , New Series , Vol . 300 , No . 5620 (May 2 , 2003), pp . 758-762 Published by : American Association for the Advancement of Scienc. **Science**, v. 300, n. 5620, p. 758–762, 2003.

FELIX, F. S. et al. Determination of salbutamol in syrups by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection (CE-C4D). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 40, n. 5, p. 1288–1292, 2006.

FIGEYS, D.; PINTO, D. Lab-on-a-chip: A revolution in biological and medical sciences. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 9, p. 330–335, 2000.

FRACASSI DA SILVA, J. A.; DO LAGO, C. L. An Oscillometric Detector for Capillary. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 20, p. 4339–4343, 1998.

FRANCISCO, K. J. M.; DO LAGO, C. L. A compact and high-resolution version of a capacitively coupled contactless conductivity detector. **Electrophoresis**, v. 30, n. 19, p. 3458–3464, 2009.

FREIRE, C. DA S. Biossensor baseado em Smartphone utilizando Ressonância de Plásmos de Superfície aplicado à detecção do Herbicida Glifosato. 2019.

GADDES, D.; REEVES, W. B.; TADIGADAPA, S. Calorimetric Biosensing System for Quantification of Urinary Creatinine. **ACS Sensors**, v. 2, n. 6, p. 796–802, 2017.

GEISSELER, D.; SCOW, K. M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms - A review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 75, p. 54–63, 2014.

GOVERNO DO BRASIL. **Balança comercial fecha 2020 com superávit de US\$ 50,9 bilhões**. Disponível em: <<https://www.gov.br/pt-br/noticias/financas-impostos-e-gestao-publica/2021/01/balanca-comercial-fecha-2020-com-superavit-de-us-50-9-bilhoes>>. Acesso em: 22 ago. 2021.

GRIESHABER, D. et al. Electrochemical biosensors - Sensor principles and architectures. **Sensors**, v. 8, n. 3, p. 1400–1458, 2008.

GUIJT, R. M. et al. Capillary electrophoresis with on-chip four-electrode capacitively coupled conductivity detection for application in bioanalysis. **Electrophoresis**, v. 22, n. 12, p. 2537–2541, 2001.

HAUSER, P. C.; KUBÁŇ, P. Capacitively coupled contactless conductivity detection for analytical techniques – Developments from 2018 to 2020. **Journal of Chromatography A**, v. 1632, p. 461616, 2020.

HODGKIN, E. P.; HAMILTON, B. H. Fertilizers and eutrophication in southwestern Australia: Setting the scene. **Fertilizer Research**, v. 36, n. 2, p. 95–103, 1993.

HOSSAIN, M. A. et al. **Plant Macronutrient Use Efficiency: Molecular and Genomic Perspectives in Crop Plants**. London: ACADEMIC PRESS, 2017.

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Commission on General Aspects of Analytical Chemistry " ? Chemical Sensors. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 1247–1250, 1991.

- KADO, S.; KIMURA, K. Single complexation force of 18-crown-6 with ammonium ion evaluated by atomic force microscopy. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 15, p. 4560–4564, 2003.
- KAISER, J. The other global pollutant: Nitrogen proves tough to curb. **Science**, v. 294, n. 5545, p. 1268–1269, 2001.
- KANIANSKY, D. et al. Contactless conductivity detection in capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 844, n. 1–2, p. 349–359, 1999.
- KARUNAKARAN, C.; RAJKUMAR, R.; BHARGAVA, K. **Introduction to Biosensors**. [s.l.] Elsevier Inc., 2015.
- KHUSH, G. S. Green revolution: Preparing for the 21st century. **Genome**, v. 42, n. 4, p. 646–655, 1999.
- KIM, H. J.; SUDDUTH, K. A.; HUMMEL, J. W. Soil macronutrient sensing for precision agriculture. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 11, n. 10, p. 1810–1824, 2009.
- KLOKE, A. et al. Strategies for the fabrication of porous platinum electrodes. **Advanced Materials**, v. 23, n. 43, p. 4976–5008, 2011.
- KOPITKE, P. M. et al. Soil and the intensification of agriculture for global food security. **Environment International**, v. 132, n. May, p. 105078, 2019.
- KUBÁŇ, P.; BOČEK, P. Direct analysis of formate in human plasma, serum and whole blood by in-line coupling of microdialysis to capillary electrophoresis for rapid diagnosis of methanol poisoning. **Analytica Chimica Acta**, v. 768, n. 1, p. 82–89, 2013.
- KUBÁŇ, P.; HAUSER, P. C. A review of the recent achievements in capacitively coupled contactless conductivity detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 607, n. 1, p. 15–29, 2008.
- LIMA, M. A. P. et al. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. **Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, v. 202, n. 9–10, p. 733–747, 2016.
- LOBSEY, C. R.; ROSSEL, R. A. V.; MCBRATNEY, A. B. Proximal Soil Sensing. **Proximal Soil Sensing**, p. 77–88, 2010.
- LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G. Boletim técnico n° 4. **ANDA ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS**, n. 3, p. 1–70, 2000.
- LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Electrochemical sensors: Fundamentals and applications in microenvironments. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318–1325, 2006.
- LYU, Y. et al. New C4D sensor with a simulated inductor. **Sensors (Switzerland)**, v. 16, n. 2, p. 31–35, 2016.
- MARK, D. et al. Microfluidic lab-on-a-chip platforms: Requirements, characteristics and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 3, p. 1153–1182, 2010.
- MAXIM INTEGRATED. **Sensors**. Disponível em: <<https://www.maximintegrated.com/en/products/sensors.html>>. Acesso em: 13 out. 2021.
- MEHRVAR, M.; ABDI, M. Recent developments, characteristics, and potential applications of electrochemical biosensors. **Analytical Sciences**, v. 20, n. 8, p. 1113–1126, 2004.
- MELERO, S. et al. Chemical and biochemical properties of a clay soil under dryland agriculture system as affected by organic fertilization. **European Journal of Agronomy**, v. 26, n. 3, p. 327–334, 2007.

MILLER, R. O. NUTRIENT USE EFFICIENCY IN PLANTS. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 36, n. 1–3, p. 37–41, 2005.

MÜLLER, A. et al. Supramolecular chemistry on a cluster surface: Fixation/complexation of potassium and ammonium ions with crown-ether-like rings. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 48, n. 32, p. 5934–5937, 2009.

NASCIMENTO, A. **Capítulo 5 Insetos : Alimento Sustentável Para Nutrição Animal**. 1. ed. Tupã, SP: ANAP, 2020.

NASCIMENTO, M.; LAPIDO-LOUREIRO, F. E. **Fertilizantes e Sustentabilidade: o potássio na agricultura brasileira**. [s.l: s.n.].

OZUTSUMI, K.; ISHIGURO, S. **A Precise Calorimetric Study of 18-Crown-6 Complexes with Sodium, Potassium, Rubidium, Caesium, and Ammonium Ions in Aqueous Solution** *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 1992.

PALAVRO, C. **Agricultura e a história brasileira**. Disponível em: <<http://revistasafra.com.br/agricultura-e-a-historia-brasileira/>>. Acesso em: 22 ago. 2021.

PYE, K.; BLOTT, S. J. Particle size analysis of sediments, soils and related particulate materials for forensic purposes using laser granulometry. **Forensic Science International**, v. 144, n. 1, p. 19–27, 2004.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. et al. **Novos Ângulos da História da Agricultura no Brasil**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010.

ROCHA, A. DOS S. Agriculturas e meio ambiente : uma questão permanente. **Bahia anál. dados**, v. 29, n. 2, p. 215–234, 2019.

ROSER, M.; RITCHIE, H.; ORTIZ-OSPINA, E. **World Population Growth**. Disponível em: <<https://ourworldindata.org/world-population-growth>>. Acesso em: 22 ago. 2021.

SILVA, F. C. DA; RAIJ, B. VAN. Disponibilidade de fósforo em solos avaliada por diferentes extratores. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 2, p. 267–288, 1999.

SMOLKA, M. et al. A mobile lab-on-a-chip device for on-site soil nutrient analysis. **Precision Agriculture**, v. 18, n. 2, p. 152–168, 2017.

STARK-ROGEL, V. et al. Environmental exposure scenario for reagents used in in-vitro diagnostics. **Water Research**, v. 173, n. 1907, 2020.

TAKEKAWA, V. S. et al. Development of low-cost planar electrodes and microfluidic channels for applications in capacitively coupled contactless conductivity detection (C4D). **Electrophoresis**, 2021.

TEIXEIRA, J. C. Modernização da agricultura no Brasil: impactos econômicos, sociais e ambientais. **Associação dos Geógrafos Brasileiros**, v. 2, n. 2, p. 21–42, 2005.

THÉVENOT, D. R. et al. ELECTROCHEMICAL BIOSENSORS : RECOMMENDED DEFINITIONS AND CLASSIFICATION (Technical Report). **Electroanalytical Chemistry**, v. 71, n. 12, p. 2333–2348, 1999.

TÓTH, K. et al. Electrochemical detection in liquid flow analytical techniques: Characterization and classification (IUPAC technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 76, n. 6, p. 1119–1138, 2004.

ULUDAG-DEMIRER, S.; OTHMAN, M. Removal of ammonium and phosphate from the supernatant of anaerobically digested waste activated sludge by chemical precipitation. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 13, p. 3236–3244, 2009.

VANDEVEER IV, W. R. et al. Recent developments in electrochemical detection for microchip capillary

electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 25, n. 21–22, p. 3528–3549, 2004.

VILKNER, T.; JANASEK, D.; MANZ, A. Micro total analysis systems. Recent developments. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 12, p. 3373–3386, 2004.

WU, C. Y.; HSIEH, H.; LEE, Y. C. Contact photolithography at sub-micrometer scale using a soft photomask. **Micromachines**, v. 10, n. 8, 2019.

XU, G.; FAN, X.; MILLER, A. J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 153–182, 2012.

ZHANG, X. Y. et al. Bacterial concentration detection using a PCB-based contactless conductivity sensor. **Micromachines**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2019.

ZHANG, Z. et al. Determination of anions using monolithic capillary column ion chromatography with end-to-end differential contactless conductometric detectors under resonance approach. **Analyst**, v. 137, n. 12, p. 2876–2883, 2012.