

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ANÁLISE EM FLUXO E ANÁLISE *IN SITU* COMO
ESTRATÉGIAS DE MELHORAMENTO DA SEQÜÊNCIA
ANALÍTICA DE AMOSTRAS AGRONÔMICAS**

*Sherlan Guimarães Lemos**

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS (área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA).

Orientadora: Dra. Ana Rita de A. Nogueira

Co-Orientadora: Dra. Márcia M. C. Ferreira

*Bolsista CNPq e FAPESP

São Carlos – SP

2005

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

L557af

Lemos, Sherlan Guimarães.

Análise em fluxo e análise *in situ* como estratégias de
melhoramento da seqüência analítica de amostras
agronômicas / Sherlan Guimarães Lemos. -- São Carlos :
UFSCar, 2005.

174 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2005.

1. Instrumentação. 2. Análise *in situ*. 3. Análise por
injeção de fluxo. 4. Sensor potenciométrico. 5. Agricultura de
precisão. 6. Solos. I. Título.

CDD: 543.07 (20^a)

FOLHA DE APROVAÇÃO

A meus pais, José Raimundo e Mariinha, e à
minha irmã, Shyrlene, dedico este trabalho e
todos os frutos advindos dele.

“O temor do SENHOR é o princípio da sabedoria.

Feliz o homem que acha sabedoria,
e o homem que adquire conhecimento;
porque melhor é o lucro que ela dá
do que a prata,
e melhor a sua renda
do que o ouro mais fino.”

Provérbios 1:7; 3:13-14.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos as pessoas e instituições que contribuíram direta ou indiretamente para a elaboração deste trabalho:

Ao meu SENHOR, pelo dom da vida e pela segurança e cuidados dispensados em todos os momentos.

À Profa. Dra. Ana Rita de Araujo de Nogueira, pela orientação segura, conhecimento, apoio e amizade incondicionais concedidos a mim. E à Embrapa, em nome da Dra. Ana Rita, pela oportunidade de usufruir suas dependências e infraestrutura.

Ao CNPq e à FAPESP, pelo financiamento da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega, pela amizade, pelas conversas e conhecimentos transmitidos e por conseguir manter, junto com a Ana, um ambiente de trabalho exemplar. Parabéns!

Ao Prof. Dr. André Torre Neto, por me oferecer todo o suporte junto ao Centro Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento de Instrumentação Agropecuária (CNPDIÁ), pelas conversas e por todo auxílio técnico, imprescindíveis ao desenvolvimento do trabalho.

Ao Gilmar Vitorino, pelas sugestões, destreza e habilidade na construção e resolução dos problemas eletrônicos ocorridos na sonda analítica.

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho, pela amizade, sugestões e presença constante na minha vida científica dentro do Programa de Pós-Graduação em Química da UFSCar.

À Profa. Márcia Miguel Castro Ferreira (Departamento de Físico-Química da Universidade Estadual de Campinas), pela amizade e todos os ensinamentos concedidos nessa área fascinante que é a Quimiometria.

Ao Grupo de Sensores e Biossensores da Universidade Autônoma de Barcelona, em nome do Prof. Dr. Julián Alonso, da Dra. Judit Artigas e de Aleix Parra, pela amizade, colaboração e todo apoio técnico-científico, sem os quais a realização deste trabalho seria impossível. Aqui vai um agradecimento especial ao Aleix pela amizade incondicional e convivência. Gracias, Cabrón!

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos, pela oportunidade e especialmente às secretárias da pós, por serem tão prestativas.

Aos funcionários da Embrapa Pecuária Sudeste e da Embrapa Instrumentação Agropecuária, pelo auxílio técnico. Um agradecimento especial ao Gilberto, à Lurdes, ao Marcão e aos estagiários do Diocesano La Salle, pela amizade e contribuições significativas ao desenvolvimento do trabalho.

Aos amigos e companheiros do GAIA e aos que fazem ou fizeram parte de uma forma ou de outra deste grupo especial, o meu mais sincero agradecimento por tudo que vivi com vocês.

Aos meus companheiros de república(s) André, Jany, Júlio, Giselly, João e Cleone, pelos bons e maus momentos que passamos. Vocês são como uma família para mim!

À Karen, pelo companheirismo e exemplo de amor.

Aos meus pais, pelo incentivo e amor, e a minha “família paulistana”, que me acolheu pacientemente quando cheguei a esta terra.

A todos aqueles que um dia estiveram presentes no Ócio, Armazém, Cachaçaria Água Doce, Clube da Cerveja, Rola Papo, ZYD ou CAASO.

Aos demais amigos e colegas que fiz durante os anos de curso. Obrigado a todos.

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1. Classificação dos eletrodos íon-seletivos	44
TABELA 4.1. Quadro resumo das determinações de nitrogênio e modos de cálculo.	55
TABELA 4.2. Formulações das membranas poliméricas (% em peso).	65
TABELA 5.1. Resultados do método proposto para determinação de $N-NH_4^+$ em amostras de tecido vegetal.	81
TABELA 5.2. Comparação entre os métodos de calibração empregados na análise de extratos de solo.	83
TABELA 5.3. Quadro comparativo entre o método proposto e o método utilizado atualmente na Embrapa.	83
TABELA 5.4. Otimização do sistema em fluxo para a determinação de fitato.....	89
TABELA 5.5. Avaliação dos resultados obtidos entre o método proposto e o método comparativo.....	91
TABELA 5.6. Avaliação nutricional de grãos e sementes utilizando o sistema de análise em fluxo proposto.	92
TABELA 5.7. Resultados obtidos para a análise de nitrato nas amostras tomadas durante a avaliação da sonda.	94
TABELA 5.8. Equações lineares obtidas entre a metodologia comparativa e a sonda analítica.....	102
TABELA 5.9. Curvas analíticas obtidas para a caracterização das membranas poliméricas de Ca^{2+}	111
TABELA 5.10. Curvas analíticas obtidas para a caracterização das novas membranas poliméricas de Ca^{2+}	117
TABELA 5.11. Comparação entre os valores de cálcio determinados experimentalmente e os obtidos através de regressão para 5 amostras.	123

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1. Evolução das necessidades da química analítica atual.	4
FIGURA 1.2. Seqüência analítica.....	5
FIGURA 3.1. Ciclo do Nitrogênio.....	19
FIGURA 3.2. O pH e a disponibilidade dos elementos no solo.	26
FIGURA 3.3. Ciclo do fósforo no solo.	30
FIGURA 3.4. Estrutura do 1,2,3,4,5,6-hexakis(dihidrogenofosfato) mio-inositol ou ácido fítico.	36
FIGURA 3.5. Monitoramento em tempo real de parâmetros físico-químicos do solo.	40
FIGURA 3.6. Funcionamento de um sensor químico.	42
FIGURA 4.1. Diagrama de fluxos para a determinação de $N-NH_4^+$	53
FIGURA 4.2. Diagrama de fluxos para a determinação de N total, $N-NO_3^-$ e $N-NO_2^-$	55
FIGURA 4.3. Construção do eletrodo de cobalto.	57
FIGURA 4.4. Desenho do suporte confeccionado em acrílico para adaptação do eletrodo de cobalto ao sistema de análise em fluxo.....	57
FIGURA 4.5. Eletrodo metálico de cobalto de configuração tubular (esquerda) e suporte de acrílico (direita).....	58
FIGURA 4.6. Esquema do sistema de análise em fluxo desenvolvido.....	59
FIGURA 4.7. Foto do sistema em fluxo.....	59
FIGURA 4.8. Desenho esquemático do sensor “screen-printing” utilizado no estudo.	62
FIGURA 4.9. Desenho esquemático da fabricação do sensor ISE de configuração convencional..	63
FIGURA 4.10. Detalhes da etapa de construção do eletrodo. Esquerda: deposição da membrana gota a gota. Direita: gota de coquetel sensor depositada e deixada em repouso para evaporação do solvente.....	64
FIGURA 4.11. Vista frontal do sensor na forma como fica instalado no corpo da sonda utilizada no trabalho.	67
FIGURA 4.12. Desenho e especificações da antena desenvolvida para análise TDR.	68
FIGURA 4.13. (a) Antena TDR instalada no corpo da sonda. (b) Conexões de contato com o equipamento para a análise TDR.	68

FIGURA 4.14. Foto da antena de transmissão para determinação da umidade por TDR formada por duas hastes paralelas de cobre.....	69
FIGURA 4.15. Desenho esquemático da sonda construída.....	70
FIGURA 4.16. Foto do conjunto de sensores adaptado ao corpo da sonda.	71
FIGURA 4.17. Janelas do programa desenvolvido para o gerenciamento da sonda analítica.....	71
FIGURA 4.18. Planilha eletrônica responsável pelo armazenamento dos dados obtidos.....	72
FIGURA 4.19. a) Esquema de montagem para a avaliação da sonda em laboratório.	73
FIGURA 4.20. (1) Esquema de montagem para a avaliação da sonda no campo. (A) Sonda de análise; (B) Sistema de conversão e transmissão dos dados; (C) Sistema de recepção, aquisição e tratamento dos dados. (2) Foto do sistema montado no solo próximo ao laboratório. (A) Sonda instalada no solo; (B) Rádio transmissor; (C) Bateria de 12 V; (D) Antena de transmissão; (E) Painel solar.	74
FIGURA 4.21. Esquema de montagem da sonda com 4 eletrodos. (a) Sensores adaptados à placa de cobre utilizada como eletrodo de referência; (b) Disposição dos conjuntos de sensores no corpo da sonda formado por um tubo de PVC, juntamente com os sistemas de aquisição e amplificação de cada conjunto.....	75
FIGURA 5.1. Demonstração do erro relativo entre o valor teórico do padrão e o valor experimental obtido pelo método proposto.	82
FIGURA 5.2. (a) Curva analítica característica obtida para nitrogênio total. (b) Curva analítica característica obtida para nitrogênio amoniacal.....	84
FIGURA 5.3. (a) Avaliação do volume da amostra na determinação de P_i . (b) Avaliação da vazão na determinação em fluxo de P_i	85
FIGURA 5.4. (a) Curva analítica obtida com as condições estabelecidas na otimização do sistema em fluxo e correlação linear obtida entre ΔE vs $\log [H_2PO_4^-]$. (b) Registros potenciométricos com as respectivas concentrações em $mg L^{-1}$	86
FIGURA 5.5. Distribuição de espécies do ácido fítico como função do pH.	87
FIGURA 5.6. Otimização do sistema de análise em fluxo para a determinação do P_{org} . Efeito da variação de pH nas alturas de pico de duas soluções analíticas contendo 50 e 500 $mg L^{-1}$ de P.	88

FIGURA 5.7. (a) Avaliação do volume da amostra no sistema de determinação de fitato. (b) Avaliação da vazão no sistema de determinação de fitato.	90
FIGURA 5.8. (a) Curva analítica para determinação de fitato obtida e correlação linear entre ΔE vs $\log[\text{fitato}]$ (b) Registros potenciométricos das soluções analíticas com concentrações em mg L^{-1}	90
FIGURA 5.9. Comportamento dos sensores “screen-printing” frente à variação da concentração de nitrato. As regiões demarcadas representam o instante em que a concentração foi variada e que solução foi adicionada diretamente sobre cada sensor.	93
FIGURA 5.10. Evolução do potencial do sensor “screen-printing” a 15 cm com as adições de nitrato sobre o perfil do solo. As setas mostram em qual etapa as amostras (A15, B15, C15 e D15) foram obtidas.....	94
FIGURA 5.11. Evolução do potencial do sensor “screen-printing” a 60 cm com as adições de nitrato sobre o perfil do solo. As setas mostram em qual etapa as amostras (A60, B60 e C60) foram obtidas.	95
FIGURA 5.12. Evolução do nitrato no solo a partir das amostras tomadas durante o experimento.	96
FIGURA 5.13. Gráfico de Pareto para avaliação de variáveis de significância estatística na resposta do sensor de nitrato a um nível de confiança de 95%...	98
FIGURA 5.14. Gráfico da relação entre a concentração de nitrato e potencial obtido pela sonda analítica.	99
FIGURA 5.15. Evolução dos potenciais pela calibração com algodões umedecidos com solução dos analitos de concentração conhecida.	100
FIGURA 5.16. Evolução dos potenciais frente a variação com adição de uma solução 1 mol L^{-1} de KCl sobre o solo.	101
FIGURA 5.17. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de K no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 5 cm de profundidade.....	102
FIGURA 5.18. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de K no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 20 cm de profundidade.....	103
FIGURA 5.19. Evolução dos potenciais frente à adição de fertilizante potássico e adições sucessivas de água.	104
FIGURA 5.20. Calibração com algodões umedecidos para a análise de pH.	105

FIGURA 5.21. Evolução dos potenciais frente à mudança de pH no solo.	106
FIGURA 5.22. Perfis de potencial gerados pelos sensores e comparação com método de análise do pH em solo.....	108
FIGURA 5.23. Evolução dos potenciais relacionados com a mudança do pH do solo causada pela correção alcalina.....	109
FIGURA 5.24. Gráfico da variação da concentração de Ca^{2+} em cada sensor, para avaliação das membranas depositadas..	110
FIGURA 5.25. Evolução dos potenciais registrados pelos sensores de cálcio frente à adição de uma grande quantidade de água sobre o solo.....	112
FIGURA 5.26. Evolução dos potenciais frente à variação da concentração de Ca^{2+} com adições sucessivas de soluções de CaCl_2 alternadas com água sobre o solo.....	113
FIGURA 5.27. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e avaliação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 5 cm de profundidade.....	114
FIGURA 5.28. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e avaliação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 20 cm de profundidade.....	115
FIGURA 5.29. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e avaliação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 50 cm de profundidade.....	115
FIGURA 5.30. Relação entre a concentração de cálcio estabelecida pelo método padrão de comparação e os resultados obtidos pela sonda analítica para o sensor a 5 cm.....	116
FIGURA 5.31. Evolução dos potenciais frente à variação da concentração de Ca^{2+} com adições sucessivas de soluções de CaCl_2 alternadas com água sobre o solo.....	118
FIGURA 5.32. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 5 cm de profundidade.....	120
FIGURA 5.33. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 20 cm de profundidade.....	120

FIGURA 5.34. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 50 cm de profundidade.....	121
FIGURA 5.35. Influência da umidade do solo sobre as respostas dos sensores....	122
FIGURA 5.36. Curvas analíticas obtidas da variação da concentração de fósforo no solo frente à adição de soluções padrões de fosfato para o sensor a 50 cm...	124
FIGURA 5.37. Curva de calibração para a antena desenvolvida e comparação com a curva proposta por Topp.	126
FIGURA 5.38. (a) Perfis de potencial nos sensores correspondentes a 5 e 50 cm de profundidade e (b) uma curva analítica obtida para os mesmos sensores com o emprego de algodões umedecidos com soluções analíticas de NH_4^+	128
FIGURA 5.39. Dois momentos diferentes da avaliação da sonda analítica no solo. Variação dos potenciais provocada pela adição de fertilizantes sobre o perfil do solo. (a) Fertilizante sem N-NH_4^+ e, (b) fertilizante com N-NH_4^+ . Sensor localizado a 5 cm de profundidade.....	129
FIGURA 5.40. Variação da temperatura do solo durante os três primeiros dias do experimento.	130
FIGURA 5.41. Variação da temperatura do solo durante o mês de outubro de 2004.	132
FIGURA 5.42. Dados meteorológicos coletados durante o mesmo período de estudo da sonda.	132
FIGURA 5.43. Respostas do conjunto de sensores situados a 5 cm de profundidade (superfície do solo) durante os três primeiros dias do experimento.	133
FIGURA 5.44. Respostas do conjunto de sensores situados a 20 cm de profundidade durante os três primeiros dias do experimento.....	134
FIGURA 5.45. Respostas do conjunto de sensores situados a 50 cm de profundidade durante os três primeiros dias do experimento.....	134
FIGURA 5.46. Influência da temperatura no sensor de K^+ situado a 5 cm de profundidade durante o experimento.	136
FIGURA 5.47. Influência da temperatura no sensor de K^+ situado a 20 cm de profundidade durante o experimento.	136
FIGURA 5.48. Influência da temperatura no sensor de P situado a 5 cm de profundidade (superfície do solo) durante o experimento.	136

FIGURA 5.49. Influência da temperatura no sensor de P situado a 20 cm de profundidade durante o experimento.	137
FIGURA 5.50. Influência da temperatura no sensor de NH_4^+ situado a 5 cm de profundidade (superfície do solo) durante o experimento.	137
FIGURA 5.51. Influência da temperatura no sensor de NH_4^+ situado a 20 cm de profundidade durante o experimento.	137
FIGURA 5.52. Influência da temperatura no sensor de NO_3^- situado a 5 cm de profundidade (superfície do solo) durante o experimento.	138
FIGURA 5.53. Influência da temperatura no sensor de NO_3^- situado a 20 cm de profundidade durante o experimento.	138
FIGURA 5.54. Influência da temperatura resultante da passagem de um fluxo contínuo de água através do perfil de um solo lavado.	141
FIGURA 5.55. Influência da temperatura resultante da passagem de um fluxo contínuo de água através do perfil de um solo lavado. Resultados para NH_4^+ e K^+	141
FIGURA 5.56. Influência da temperatura resultante de um fluxo contínuo de água através do perfil de um solo lavado. Resultados para P (HPO_4^{2-}).	142
FIGURA 5.57. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de K^+ no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação. (a) sensor a 5 cm de profundidade; (b) sensor a 20 cm de profundidade.	144
FIGURA 5.58. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de P no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação. (a) sensor a 5 cm de profundidade; (b) sensor a 20 cm de profundidade.	144
FIGURA 5.59. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de NH_4^+ no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação. (a) sensor a 5 cm de profundidade; (b) sensor a 20 cm de profundidade.	145
FIGURA 5.60. Relação entre a concentração de potássio no solo e o potencial gerado pelos sensores a 5 cm.	145
FIGURA 6.1. Desenho esquemático da unidade de tratamento de resíduos.	156
FIGURA 6.2. Espectros na região do visível demonstrando o resíduo antes e após o tratamento.	157

RESUMO

ANÁLISE EM FLUXO E ANÁLISE *IN SITU* COMO ESTRATÉGIAS DE MELHORAMENTO DA SEQÜÊNCIA ANALÍTICA DE AMOSTRAS AGRONÔMICAS. O presente trabalho discute o emprego de estratégias alternativas no melhoramento da seqüência analítica de amostras de interesse agrônômico. Para tanto, procurou-se atuar na eliminação da etapa de amostragem, com a análise *in situ* de solos, ou na etapa de medida, com a adoção de métodos de análises em fluxo, onde foram desenvolvidos dois sistemas de análise. O primeiro foi empregado na determinação de nitrogênio total e suas formas inorgânicas em amostras de plantas e solos, baseado na reação de Berthelot. O segundo sistema de análise em fluxo foi desenvolvido para a especiação de fósforo em amostras de sementes e grãos utilizados em nutrição animal utilizando um eletrodo metálico de cobalto. Para a eliminação da etapa de amostragem no processo de análise de solos, foi desenvolvido um protótipo de sonda analítica (*hardware* – sonda, sensor e instrumentação eletrônica – e *softwares* – algoritmos para aquisição, processamento, conversão, armazenamento e transferência de dados) utilizando sensores íon-seletivos de membrana polimérica à base de PVC suscetíveis à inserção em solos para obter informações *in situ* e em tempo real de processos de assimilação de nutrientes. Foram avaliados parâmetros de interesse na caracterização de solos agrícolas, tais como: pH e disponibilidade de alguns nutrientes (K^+ ; N, como NO_3^- e NH_4^+ ; Ca^{2+} e P, como $H_2PO_4^-/ HPO_4^{2-}$). Apesar de ainda serem necessários maiores estudos sistemáticos, os resultados indicam boa resposta dos sensores e a grande aplicabilidade deste instrumental no monitoramento da fertirrigação, auxiliando o estabelecimento dos processos racionais de gestão da agricultura.

ABSTRACT

FLOW ANALYSIS AND *IN SITU* ANALYSIS AS APPROACHES TO THE IMPROVEMENT OF THE AGRONOMIC SAMPLES ANALYTICAL PATHWAY. The present work discusses the use of alternative approaches for the improvement of the agronomic sample analytical pathway. It was focused on the elimination of the sampling step, with the *in situ* soil analysis, or in the measurement step with the adoption of flow analysis procedures, with the development of two analytical systems. The first one was employed in the total nitrogen and its inorganic forms determination in plant and soil samples, based on the Berthelot reaction. The second flow analysis system was developed for phosphorous speciation in seeds and grains samples used in animal nutrition by means a cobalt metallic electrode. For the elimination of the sampling step in the process of soil analysis, an analytical probe prototype was developed (hardware – probe, sensors and electronic instrumentation – and software – algorithms for acquirement, processing, conversion, storage and data transfer) by using PVC membrane ion-selective sensors suitable to be inserted into soils for obtaining *in situ* and real time information of nutrient assimilation on agricultural soils. Parameters as pH and availability of some nutrients (K^+ ; N, as NO_3^- and NH_4^+ ; Ca^{2+} and P, as $H_2PO_4^-/ HPO_4^{2-}$) were evaluated in this stage. Although more systematic studies are needed, the results showed good responses of the studied sensors, and the great applicability of the developed instrumentation in the fertility irrigation monitoring, helping to establish rational processes in agricultural systems.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	3
2 – OBJETIVOS.....	8
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3.1 – Química e Fertilidade do Solo.....	13
3.1.1 – Definição	13
3.1.2 – A Química do Solo	14
3.1.2.1 – <i>Composição da Solução do Solo</i>	14
3.1.3 – Alguns Conceitos sobre Fertilidade do Solo.....	14
3.1.3.1 – <i>Nutrientes</i>	15
3.1.3.2 – <i>Colóides e Íons do solo</i>	15
3.1.3.3 – <i>Capacidade de Troca de Cátions (CTC)</i>	16
3.1.3.4 – <i>Adsorção de ânions</i>	17
3.1.4 – O Nitrogênio e a Fertilidade dos Solos	17
3.1.4.1 – <i>Formas do Nitrogênio no Solo</i>	18
3.1.4.2 – <i>Ciclo do Nitrogênio</i>	18
3.1.4.3 – <i>Determinação de Nitrogênio em Amostras Agronômicas</i>	20
3.1.5 – Potássio no solo.....	21
3.1.5.1 – <i>Formas de potássio no solo</i>	21
3.1.5.2 – <i>Movimento do potássio no solo</i>	23
3.1.5.3 – <i>Análise de potássio em solos</i>	23
3.1.6 – Reações dos solos.....	24
3.1.6.1 – <i>pH do solo</i>	24
3.1.6.2 – <i>Fatores que influenciam o pH do solo</i>	24
3.1.6.3 – <i>Acidez do solo</i>	25
3.1.6.4 – <i>Capacidade tampão do solo</i>	27
3.1.6.5 – <i>Determinação do pH do solo</i>	27
3.1.7 – O Fósforo e a Fertilidade do Solo.....	28
3.1.7.1 – <i>Formas e Movimentação do Fósforo nos Solos</i>	28
3.1.8 – Cálcio e Fertilidade do Solo.....	31
3.1.8.1 – <i>Forma do Cálcio no Solo</i>	31
3.1.8.2 – <i>Análise de Cálcio em Solos</i>	32
3.1.9 – Determinações de Propriedades Físicas do Solo (temperatura e umidade).....	33
3.2 – Ácido Fítico: importância e métodos de determinação	35

3.3 – Agricultura de Precisão	37
3.4 – Sensores Químicos	40
3.4.1 – Eletrodos Íon-Seletivos (ISE).....	43
3.4.1.1 – <i>Eletrodos Íon-Seletivos de Membranas Poliméricas</i>	43
3.4.1.2 – <i>Eletrodo Metálico de Cobalto</i>	45
3.5 – Análise em Fluxo.....	46
4 – MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1 – Sistema de Análise em Fluxo para a Determinação de Nitrogênio em Amostras Agronômicas.....	51
4.1.1 – Equipamentos e acessórios.....	51
4.1.2 – Reagentes.....	51
4.1.3 – Procedimento.....	52
4.1.3.1 – <i>Determinação de N-NH₄⁺</i>	52
4.1.3.2 – <i>Determinação de N-NO₃⁻ e N-NO₂⁻</i>	54
4.1.3.3 – <i>Amostras</i>	55
4.2 – Sistema de Análise em Fluxo Potenciométrico para a Determinação Simultânea de Fitato e Fosfato.....	56
4.2.1 – Construção do eletrodo de cobalto e condicionamento	56
4.2.2 – Instrumentação	58
4.2.3 – Preparo das amostras e determinações dos teores de P	59
4.3 – Análise de Solos “In Situ”: desenvolvimento e aplicação de um protótipo empregando sensores eletroquímicos no estudo da variabilidade de nutrientes no solo.....	61
4.3.1 – Equipamentos e acessórios.....	61
4.3.1.1 – <i>Sensores utilizados</i>	61
4.3.1.2 – <i>Preparação das membranas poliméricas</i>	64
4.3.1.3 – <i>Sonda analítica</i>	65
4.3.1.4 – <i>Avaliação da sonda analítica</i>	72
4.3.1.5 – <i>Sonda NPK</i>	74
4.3.2 – Metodologias Comparativas de Determinação dos Nutrientes Estudados	76
4.3.2.1 – <i>Potássio, cálcio e fósforo</i>	76
4.3.2.2 – <i>Acidez</i>	76
4.3.2.3 – <i>Nitrogênio (nitrato e amônio)</i>	77
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
5.1 – Sistema de Análise em Fluxo para a Determinação de Nitrogênio em Amostras Agronômicas.....	81

5.2 – Sistema de Análise em Fluxo Potenciométrico para a Determinação Simultânea de Fitato e Fosfato: avaliação nutricional de sementes grãos utilizados em nutrição animal	84
5.2.1 – Determinação do Fósforo Inorgânico (P_i)	84
5.2.2 – Determinação do Fósforo Orgânico (P_{org})	86
5.3 – Análise de Solos “In Situ”: desenvolvimento e aplicação de um protótipo empregando sensores eletroquímicos no estudo da variabilidade de nutrientes no solo.....	92
5.3.1 – Nitrato (NO_3^-).....	92
5.3.2 – Potássio (K^+)	99
5.3.3 – pH.....	104
5.3.4 – Cálcio (Ca^{2+})	110
5.3.5 – Fósforo ($H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$)	123
5.3.6 – Determinação da Umidade via TDR (refletometria no domínio do tempo)	125
5.3.7 – Sonda NPK	126
5.3.7.1 – Avaliação com algodões umedecidos	127
5.3.7.2 – Avaliação da sonda em solo no laboratório	128
5.3.7.3 – Aplicação da sonda analítica no monitoramento do solo.....	129
6 – TRATAMENTO DOS RESÍDUOS	155
7 – CONCLUSÕES	161
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	167

Introdução

1 – INTRODUÇÃO

Acerca da Química Analítica, Wilhelm Ostwald escreveu em 1894: “A Química Analítica, arte do reconhecimento de diferentes substâncias e determinação dos seus constituintes, possui uma proeminente posição entre as aplicações da ciência. Sua importância suprema tem sido cultivada rigorosamente desde os princípios da história da química e seus registros englobam grande parte do trabalho quantitativo, identificado em todos os domínios da ciência”. Desde a época de Ostwald, a química analítica teve sua evolução de arte a ciência, com aplicações na indústria, medicina e em todas as outras ciências (SKOOG et al., 1996).

Atualmente, esta evolução está intimamente relacionada com o desejo crescente e a necessidade de se monitorar em tempo real todos os aspectos dos ambientes que nos cercam, fruto das preocupações da sociedade moderna com a poluição, a saúde e a segurança das populações (CATRALL, 1997). Se antes, a informação era obtida de forma discreta, as necessidades atuais de monitoramento estão criando procedimentos analíticos capazes de gerar informações contínuas e em tempo real. Devido à evolução da geração de informações químicas, o químico analítico atual se encontra diante de novos desafios e, para resolvê-los, deve dispor de conhecimentos adicionais que vão além daqueles adquiridos em sua formação básica. Por este motivo, é cada vez mais freqüente a necessidade de se trabalhar de modo multidisciplinar, empregando conhecimentos científicos e tecnológicos de outras áreas do conhecimento diferentes da química (ARTIGAS, 2003).

Este caráter multidisciplinar implica que o analista deve substituir ou complementar as metodologias e conceitos disponíveis ao seu alcance por outras que considere, além da química, a física, matemática, biologia, a engenharia ou a eletrônica. O resultado é a produção de uma informação analítica mais completa e obtida de forma mais rápida (ARTIGAS, 2003). A Figura 1.1 demonstra de forma resumida o quadro atual e as características das informações geradas de acordo com as necessidades da sociedade contemporânea, as quais o analista químico deve estar identificado. Observa-se que o interesse analítico está sendo direcionado para a resolução dos sistemas como um todo e não apenas na determinação de um analito, com a informação sendo gerada em um nível estrutural e de forma contínua, investigando quantidades cada vez menores dos componentes. Para isso, a geração

das informações está sendo aos poucos deslocada dos laboratórios especializados para a análise direta no local de estudo, determinando uma mudança de pensamento caracterizada pela substituição do acompanhamento pelo monitoramento.

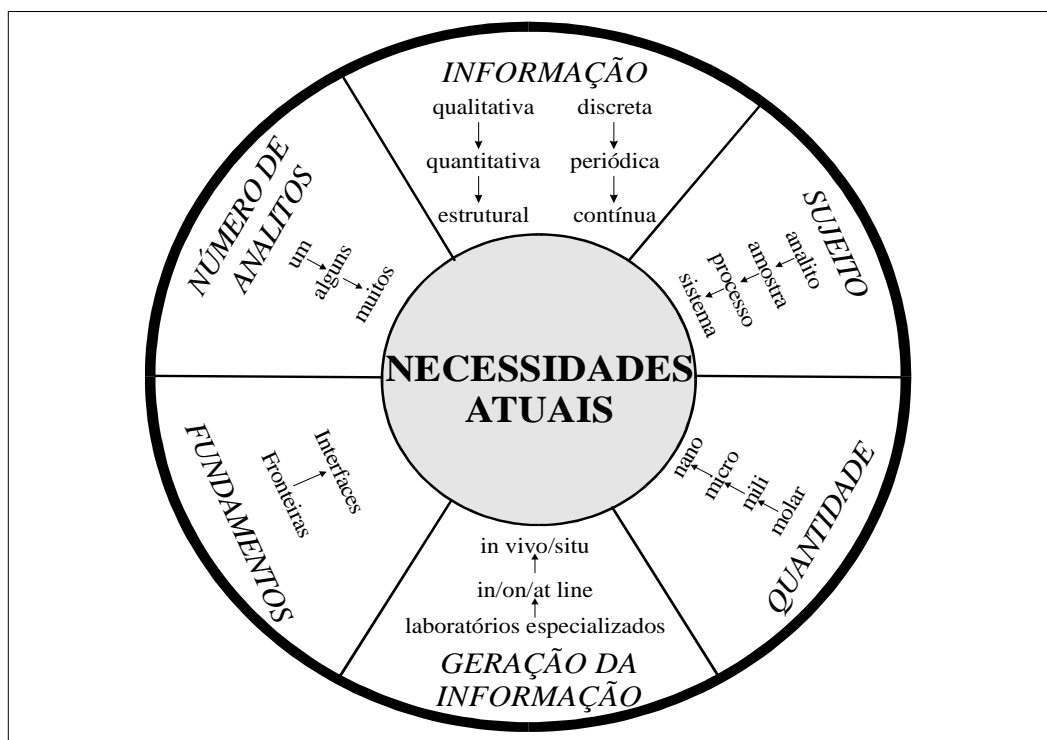


FIGURA 1.1. Evolução das necessidades da química analítica atual.

Os principais requisitos para a obtenção de um determinado parecer analítico, ou seja, para a aplicação do resultado de uma análise na resolução de um problema, seguem uma seqüência de etapas que podem ou não ser levadas em consideração (Figura 1.2). O primeiro passo é a **definição do problema**, onde o analista defronta-se com que informação analítica ele deseja obter da amostra. Prossegue-se através da **escolha do método**, onde se decide com detalhes de que maneira a informação analítica será obtida. Como características desejáveis, o método a ser escolhido deve ser eficiente, simples e rápido, proporcionando mínima manipulação experimental e com máxima segurança operacional. Em seguida a escolha do método, realiza-se a **amostragem**, que é o processo de seleção e remoção de uma parte representativa e suficiente da amostra original, na qual será realizada a análise. Geralmente após a coleta há uma etapa de **preparo da amostra** e separação, onde a amostra é convertida a uma forma adequada para que a

análise proceda. Dentre todas as operações analíticas, a etapa de pré-tratamento é a mais crítica, pois é nesta etapa que se cometem mais erros e onde se gasta mais tempo, sendo também a etapa de maior custo. Após a conversão da amostra há a etapa de **calibração/medida**, onde os dados analíticos são obtidos, os quais são interpretados na etapa de **avaliação**. Por fim, o resultado analítico é usado para se tomar uma decisão com respeito ao problema original. É a etapa da **ação** (KRUG, 1998).

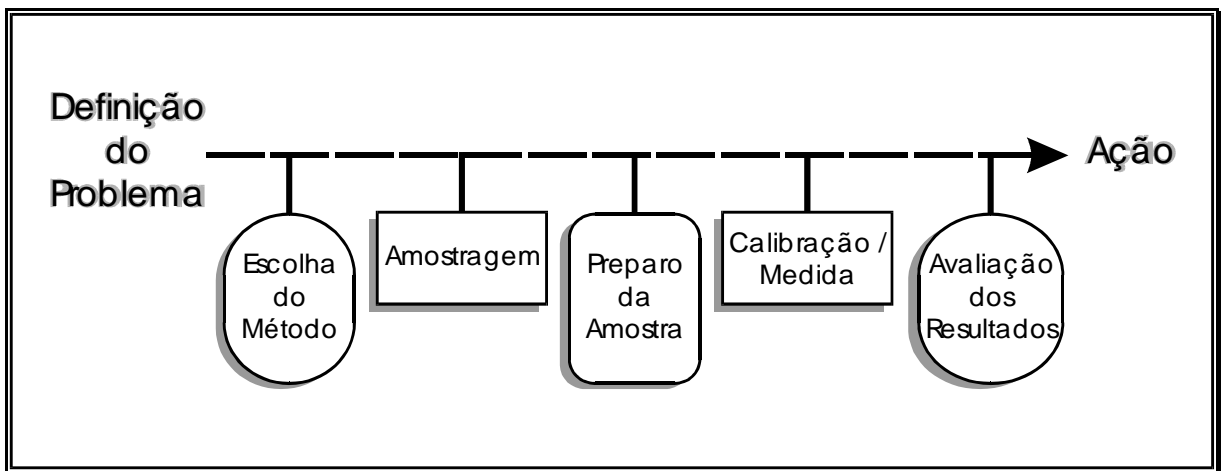


FIGURA 1.2. Seqüência analítica.

Quando se trabalha na resolução de problemas agronômicos, a seqüência analítica aplicada a amostras dessa natureza possui algumas características peculiares, relacionadas principalmente com as etapas de amostragem e preparo. Na amostragem de solos, por exemplo, deve-se tomar um cuidado especial para garantir a representatividade de um talhão ou de uma determinada área. Essa preocupação geralmente leva à tomada de uma quantidade muito grande de amostras, o que gera uma outra preocupação, a de garantir a homogeneidade da mesma. Entretanto, com a utilização de algumas estratégias relativamente simples, a garantia da representatividade e da homogeneidade pode ser melhorada (LUCHESE et al., 2002).

A etapa de preparo para amostras de solos, por exemplo, é constituída de procedimentos necessários para eliminação de impurezas (resíduos estranhos) e uniformização da granulometria. Esta etapa é extremamente morosa, apresentando desde a chegada da amostra ao laboratório até a disponibilização para extração dos analitos, ou seja, com a amostra já seca e moída (se necessário), um período não

menor que 60 horas. A uniformização do tamanho das partículas de solo é feita para homogeneizar a amostra, minimizar erros na tomada do volume do solo e facilitar a extração dos elementos químicos. Aqui se chega em um ponto crucial da etapa de preparo de amostras de solos: a extração. A extração é um processo pelo qual os elementos químicos são retirados do solo em uma solução de composição e concentração conhecida. Existe uma grande variedade de extratores utilizados, dependendo da informação analítica desejada (concentração total ou apenas a disponível para as plantas) e do tipo de analito a ser estudado. Essa grande disponibilidade, com exemplos de vários extratores para um mesmo analito, leva a uma dificuldade de comparação dos resultados obtidos entre laboratórios de países diferentes ou dentro de um mesmo país, como é o caso do Brasil. Além desses inconvenientes, a etapa de extração também poder ser, dependendo do analito, uma etapa lenta.

O refinamento desse processo analítico convencional pode ser conseguido através da modificação ou eliminação de algumas etapas. Discutindo-se o processo de análise de amostras agronômicas, podendo essa discussão também ser estendida a outros tipos de amostras, pode-se obter a melhora da eficiência do processo analítico com a adoção de algumas estratégias:

- **Eliminação da etapa de amostragem**

A eliminação da etapa de amostragem é útil para os casos em que há a dificuldade de se garantir a representatividade ou a homogeneidade das amostras, como citado anteriormente para as amostras de solos. Também pode ser aplicada para os casos em que as amostras possuam concentrações muito baixas dos analitos ou são instáveis. Esta necessidade implica no desenvolvimento de métodos analíticos que permitam gerar informações on-line, in-line ou, preferivelmente, *in situ* (ARTIGAS, 2003). Por exemplo, para a análise de solos já existe na literatura uma gama de aplicações analíticas para determinação *in situ* de parâmetros físico-químicos que vão desde a utilização de eletrodos íon-seletivos no monitoramento de nutrientes na água de drenagem do solo (LE GOFF et al., 2002) até a determinação da umidade ou composição morfológica através do uso de sensoriamento remoto (SOMMER et al., 1998).

- **Redução da etapa de preparo da amostra**

Atualmente, o melhoramento desta etapa pode ser conseguido com a utilização de métodos mais específicos e seletivos, onde a influência da matriz pode ser menosprezada (ARTIGAS, 2003). Atualmente, a utilização de radiação microondas está em expansão, uma vez que é uma metodologia mais exata e precisa de disponibilização dos analitos, com uma menor geração de resíduos e maior segurança no manuseio de todo o processo. A maior desvantagem dos procedimentos que empregam energia microondas no preparo é a pequena frequência analítica (número de amostras preparadas por unidade de tempo). Entretanto, futuramente essa não será uma desvantagem em vista dos novos equipamentos que estão sendo desenvolvidos. Uma estratégia interessante e que já existe descrita na literatura para preparo de amostras de solos é a mecanização de todo o processo de preparo e disponibilidade do extrato diretamente na etapa de medida (BIRRELL e HUMMEL, 2001). Outra estratégia empregada é adoção de técnicas que façam a medida diretamente sobre a amostra não tratada. Muitos métodos instrumentais modernos (espectrometria de fluorescência de raios-X, análise por ativação neutrônica, ablação com laser em espectrometria de massa com plasma, espectrometria de emissão atômica com excitação por arco ou faísca) requerem muito menos pré-tratamento de amostras que os métodos clássicos (KRUG, 1998). Entretanto, alguns desses métodos são extremamente caros na sua operação quanto manutenção, o que nos leva à próxima estratégia de melhoramento da eficiência da seqüência analítica.

- **Desenvolvimento de equipamentos de medida robustos, portáteis e de baixo custo**

A modificação da etapa de medida/calibração é uma outra opção na busca de melhoria na eficiência da seqüência analítica. Atualmente, existe uma grande variedade de técnicas analíticas capazes de realizar a determinação multielementar e com grande rapidez, desde que a amostra esteja preparada adequadamente. Como exemplo, as técnicas espectroscópicas citadas anteriormente. Entretanto, tais técnicas têm custo elevado e, na falta de recursos para a sua aquisição, deve-se ter a disposição técnicas que possuam custo muito menor, mas que não deixem a desejar em exatidão e precisão. Nesse sentido a utilização de sensores e, principalmente, dos sistemas de análise em fluxo, auxilia

no desenvolvimento de metodologias analíticas robustas e de baixo custo. Outras vantagens da aplicação dessas alternativas analíticas é a possibilidade de miniaturização e construção de sistemas portáteis, em contraposição às outras técnicas citadas.

Dentro desse contexto, será discutida aqui neste trabalho a utilização de duas das três estratégias descritas anteriormente para o melhoramento da seqüência analítica de amostras de interesse agrônômico. Será abordada a eliminação da etapa de amostragem através do desenvolvimento de metodologia para análise de solos *in situ* e, também, o desenvolvimento de metodologias de análise em fluxo na criação de sistemas analíticos robustos, de alta freqüência analítica e de baixo custo, para a aplicação em extratos de plantas e de solos.

2 – OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo geral o emprego de estratégias alternativas no melhoramento da seqüência analítica de amostras de interesse agrônômico, atuando na eliminação da etapa de amostragem ou na etapa de medida. Como objetivos específicos, as atividades realizadas na execução do projeto estabeleceram uma metodologia de construção de sensores químicos e sua instrumentação associada, visando tanto a aplicação em campo dos equipamentos (sondas) para análise de nutrientes em solos *in situ*, quanto para o desenvolvimento de sistemas em fluxo para aplicação na análise de extratos de solos e plantas.

O desenvolvimento da sonda analítica para análise de solos *in situ* visa o monitoramento de parâmetros de interesse na caracterização da fertilidade de solos agrícolas, tais como: pH, e disponibilidade de alguns nutrientes (K, como K^+ , N mineral, como NO_3^- e NH_4^+ , Ca^{2+} e P, como $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$), com a obtenção de uma primeira geração de protótipos (hardware – sonda, sensor e instrumentação eletrônica – e softwares – algoritmos para aquisição, processamento, conversão, armazenamento e transferência de dados, bem como um sistema integrado para a tomada de decisões) suscetíveis de serem inseridos em solos.

A utilização da técnica de análise em fluxo visa o desenvolvimento de um sistema para a determinação do teor de fósforo orgânico e inorgânico em sementes

e grãos utilizados na nutrição de animais confinados e também de um sistema para a determinação de nitrato e amônio em extratos de plantas e solos.

Revisão Bibliográfica

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 – Química e Fertilidade do Solo

3.1.1 – Definição

O solo é formado por minerais não consolidados e matéria orgânica na superfície imediata da Terra e serve como meio para o crescimento das plantas (KINCHELOE, 2004). Até o fim do século XIX, pensava-se que o solo era um ambiente estático. Entretanto, nessa época cientistas russos introduziram o conceito do solo como um ambiente dinâmico, identificando cinco fatores de formação do solo:

- a) Tempo: há quanto tempo o solo está em formação;
- b) Material de origem: rochas, aluvião etc.;
- c) Fatores bióticos: plantas, animais e microorganismos;
- d) Topografia: posição do solo, aspecto, forma e quantidade;
- e) Clima: temperatura, umidade e distribuição sazonal.

Esses agentes formam nos solos faixas denominadas de horizontes, os quais lhe dão características próprias (cor, estrutura, textura, consistência, porosidade e reatividade). Em um solo encontram-se três fases fundamentais: a sólida, formada pelos minerais e pela matéria orgânica; a líquida, a solução do solo, e a gasosa, o ar do solo. A composição do solo é muito variável. De modo geral, costuma-se dizer que um solo constitui-se de 20-30% de ar, 20-30% de água, 45% de minerais e 5% de matéria orgânica em termos de volume. (LUCHESE et al., 2002). A solução do solo encontra-se nos espaços vazios da fase sólida, denominados de poros do solo. Na solução do solo encontram-se os nutrientes na forma iônica, ou complexados, daí sua grande importância em solos agrícolas. O ar do solo também se encontra nos poros da fase sólida, disputando o mesmo espaço com a solução do solo, apresentando uma tendência de se assemelhar ao ar atmosférico, pois provém deste (LUCHESE et al., 2002).

3.1.2 – A Química do Solo

O solo é a parte mais superficial da litosfera e é constituído por uma mistura variada de partículas minerais, matéria orgânica, ar e uma solução aquosa. Esta, formada através de um conjunto de processos físicos, químicos e biológicos a partir do meio rochoso original, constitui o suporte material para o desenvolvimento de organismos vivos. No meio edáfico existem diferentes processos químicos que se concentram na solução aquosa do solo. As propriedades físico-químicas desta solução são regidas pelos diferentes equilíbrios que mantém com a fase coloidal do solo (orgânica e inorgânica), as plantas e a atmosfera, produzindo uma grande diversidade e complexidade em sua composição.

3.1.2.1 – Composição da Solução do Solo

Como citado anteriormente, a solução aquosa do solo mantém com o ambiente que a cerca uma série de equilíbrios químicos e biológicos que permitem o aporte de nutrientes aos seres vivos. Na solução do solo se encontra uma variada presença de íons, com concentrações variáveis, dependentes essencialmente do tipo de solo e época do ano. Os cátions mais abundantes e que permitem uma troca com as partículas minerais e a fração orgânica do solo são Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , NH_4^+ e Al^{3+} . Os ânions (Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- e HCO_3^-) se caracterizam por ter uma tendência à lixiviação, sendo assim, presentes em baixas concentrações.

A presença de íons na solução do solo é o resultado de diversas causas. Das causas endógenas cabe destacar os seguintes mecanismos: intemperismo mineral, decomposição da matéria orgânica, chuva e processos de troca iônica entre a solução do solo e as partículas coloidais. A irrigação com soluções de alto teor salino, o aporte de fertilizantes solúveis e a disposição de contaminantes solúveis são algumas das principais causas exógenas.

3.1.3 – Alguns Conceitos sobre Fertilidade do Solo

Fertilidade do solo é a capacidade que o mesmo deve ter para prover os nutrientes requeridos para o crescimento dos cultivos. Isto é importante porque o

máximo potencial das colheitas nunca é atingido se a escassez de nutrientes acontece em um dado momento durante o ciclo de crescimento. O estudo da fertilidade do solo visa ao equilíbrio dos nutrientes para a planta, pelo conhecimento da deficiência ou excesso dos mesmos, os quais podem afetar o crescimento da planta, a suscetibilidade a pestes e a qualidade do pós-colheita (CASFS, 2004).

Um solo fértil necessariamente não é um solo produtivo. A segunda exigência principal é que o solo deve prover um ambiente satisfatório para crescimento da planta. Entre os fatores ambientais estão: textura, estrutura, disponibilidade de água, pH, temperatura e aeração. Cada um desses fatores afeta diretamente o crescimento da planta e está relacionado aos demais.

3.1.3.1 – Nutrientes

O solo contribui com os chamados elementos minerais essenciais sem os quais a planta não poderia viver (MALAVOLTA, 1981). Esses elementos se classificam de acordo com a proporção em que aparecem na matéria seca em dois grandes grupos:

- Os **macronutrientes**: são o nitrogênio (N), o fósforo (P) e o potássio (K), denominados de nutrientes primários; o enxofre (S), o cálcio (Ca) e o magnésio (Mg), denominados nutrientes secundários.
- Os **micronutrientes**: são o ferro (Fe), o manganês (Mn), o cobre (Cu), o zinco (Zn), o molibdênio (Mo), o boro (B) e o cloro (Cl).

Além desses, ainda existem mais três elementos, denominados de nutrientes não minerais, pois os mesmos são encontrados na atmosfera e na água e participam do processo de fotossíntese. São eles o carbono (C), o hidrogênio (H) e o oxigênio (O). Os nutrientes primários geralmente tornam-se deficientes no solo antes dos demais, porque as plantas os usam em quantidades relativamente grandes. Os nutrientes secundários e os micronutrientes também são essenciais para as plantas, porém são geralmente menos deficientes e usados em quantidades muito menores.

3.1.3.2 – Colóides e íons do solo

A natureza dinâmica dos solos é geralmente atribuída às finas porções de matéria orgânica e material mineral (argila), sendo ambos constituintes do solo

presentes na forma coloidal. Colóide é uma partícula, um agregado molecular com um diâmetro de 0,1 a 0,001 μm (TAN, 1983). Os colóides são os principais responsáveis pela atividade química dos solos. São caracterizados pelo tamanho extremamente pequeno, grande área superficial por unidade de peso e presença de cargas superficiais (KINCHELOE, 2004). Cada colóide do solo apresenta carga líquida negativa desenvolvida durante o processo de formação, a qual permite a habilidade de absorver cátions. Essa característica dos colóides explica porque o nitrogênio na forma de nitrato (NO_3^-) é lixiviado mais facilmente do solo do que o nitrogênio na forma de amônio (NH_4^+).

As propriedades físico-químicas dinâmicas do solo são em grande parte controladas pela argila e pela matéria orgânica. Elas agem como centros ativos onde as reações químicas e trocas de nutriente acontecem. Além disso, atraindo íons para as suas superfícies, protegem temporariamente os nutrientes essenciais de serem lixiviados e então os liberam lentamente para uso pela planta. Os colóides da matéria orgânica possuem maior capacidade de retenção de nutrientes e água do que as argilas. Essas, entretanto, estão presentes em maior proporção. Por isso, a sua contribuição total para as propriedades físicas e químicas do solo geralmente se igualará ou excederá a da matéria orgânica. Os melhores solos agrícolas contêm um equilíbrio destes dois importantes constituintes. (KINCHELOE, 2004)

3.1.3.3 – Capacidade de Troca de Cátions (CTC)

Os cátions retidos nos colóides do solo podem ser substituídos por outros cátions. Isto significa que eles são trocáveis. O número total de cátions trocáveis que um solo pode reter (a quantidade de sua carga negativa) é chamado de “capacidade de troca de cátions” ou CTC. Quanto maior o valor da CTC do solo, maior o número de cátions que ele pode reter (LOPES, 1989). Os cátions no solo estão divididos em cátions ácidos (hidrogênio e alumínio) e básicos (principalmente cálcio, magnésio, sódio, e potássio).

A força pela qual os cátions são retidos através dos colóides do solo dependerá de vários fatores. Quanto menor o cátion e houver menos água adsorvida a ele, mais fortemente ele estará preso às partículas do solo. Sendo assim, o íon hidrogênio estará ligado mais firmemente e mais difícil será sua substituição em comparação com cátions de maior tamanho e maior facilidade de hidratação como

amônio, cálcio, magnésio e potássio. Cátions divalentes apresentam maior força de ligação na superfície dos colóides do solo que cátions monovalentes. Então, cálcio e magnésio são mais difíceis de substituir que cátions monovalentes como potássio e amônio.

Outro fator que afeta a fertilidade do solo e está intimamente relacionado com a CTC é a percentagem da CTC total que cada um dos cátions principais ocupa. Se certos cátions dominarem a CTC do solo (como Al^{3+} e H^+ nos solos ácidos), os cátions como K^+ e Ca^{2+} serão bastante reduzidos e sujeitos a perdas por lixiviação. Então, o solo não poderá suprir as relações e quantidades dos nutrientes essenciais para proporcionar um crescimento normal nas plantas (LOPES, 1989).

3.1.3.4 – Adsorção de ânions

Os ânions mais comuns no solo são cloreto, sulfato, fosfato e nitrato. Além da capacidade de adsorção de cátions, o solo possui também a habilidade de adsorver ânions, porém em menor extensão que os cátions. A adsorção de ânions é dependente do pH e aumenta com uma diminuição do pH do solo. Fosfato e sulfato são adsorvidos mais fortemente que nitrato e cloreto. O fenômeno da adsorção de ânions não é tão importante para os cultivos como a adsorção de cátions. A maioria dos solos agrícolas possui um pH mais alto que aquele no qual a adsorção aniônica está em sua força máxima e, com a exceção de fosfato e sulfato (em um menor nível), os ânions são geralmente retirados do solo por lixiviação. Os nutrientes que normalmente são providos através de ânions são o nitrogênio (NO_3^-), fósforo (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}), enxofre (SO_4^{2-}), cloro (Cl^-), boro ($\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$) e molibdênio (MoO_4^-). (CASFS, 2004)

3.1.4 – O Nitrogênio e a Fertilidade dos Solos

Cada parte da superfície terrestre é coberta com milhares de quilos desse nutriente essencial. Entretanto ele não está diretamente disponível para as plantas, uma vez que o nitrogênio atmosférico é formado por moléculas de nitrogênio inerte (N_2). Embora o nitrogênio seja um dos elementos mais abundantes na Terra, a deficiência de nitrogênio é provavelmente o problema nutricional mais comum entre as plantas do mundo inteiro (ECKERT, 2005).

3.1.4.1 – Formas do Nitrogênio no Solo

A quantidade de N suprida pela maioria dos solos é pequena. Muito pouco é encontrado nas rochas e minerais; muito do N vem da matéria orgânica, que o libera lentamente, sendo a taxa controlada por fatores como temperatura, umidade e textura do solo (MALAVOLTA, 1996). Em geral, nos solos minerais existem três formas principais de N: (a) N orgânico associado ao humo do solo, (b) N amoniacal fixado por certos minerais argilosos e, (c) compostos de nitrato e amônio solúvel inorgânico (BRADY, 1983).

Em qualquer época, 95 a 99% do nitrogênio potencialmente disponível estão na forma orgânica, presente na matéria orgânica do solo ou nos organismos vivos. Esta forma não é facilmente disponível para as plantas, mas pode ser convertida às formas disponíveis através de microorganismos. A maioria do nitrogênio disponível está nas formas inorgânicas (NH_4^+ e NO_3^-), também chamadas de nitrogênio mineral. O amônio liga-se ao complexo de troca catiônica negativamente carregado do solo e se comporta como os outros cátions no solo. O nitrato não se liga ao solo por ser negativamente carregado, mas existe dissolvido na solução do solo (ECKERT, 2005).

3.1.4.2 – Ciclo do Nitrogênio

Grande parte do N adicionado ao solo passa por várias transformações antes de ser removido. O N na forma orgânica é submetido a modificações realmente complexas. As proteínas são convertidas em vários produtos de decomposição e finalmente parte do N aparece sob a forma de nitratos. Mesmo assim, não fica inativo porque é anexado pelos microorganismos e pelos vegetais superiores, ou removido por drenagem ou ainda perdido por volatilização. Assim sucedem-se continuamente as transferências cíclicas (Figura 3.1). É notável a mobilidade do N, rivalizando com o C na facilidade de movimentação (BRADY, 1983).

O processo de entrada do N no solo é chamado de fixação, e pode ocorrer de diversas formas: (a) fixação biológica, pela ação de microorganismos que transformam o N gasoso e inerte (N_2) em NH_3 ; (b) através do arraste do nitrato pela chuva; ou (c) através da utilização de fertilizantes nitrogenados. Existe um outro processo de entrada do N no solo chamado de mineralização, o qual é caracterizado

pela liberação de íons amônio a partir da matéria orgânica em composição. O amônio produzido é mantido na solução do solo, adsorvido nos sítios de troca catiônica ou retirado pelas plantas. No processo de nitrificação o amônio é transformado a nitrato, que é mais facilmente aproveitado pelas plantas (KINCHELOE, 2004).

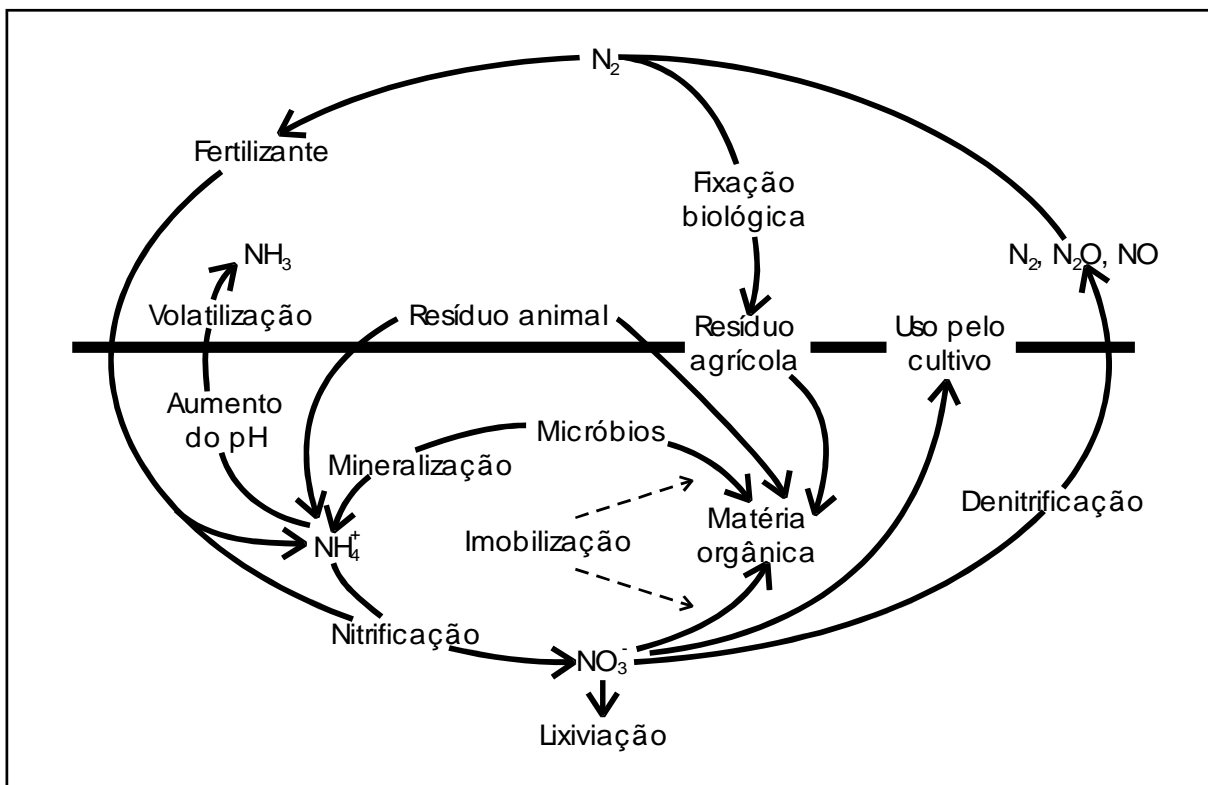


FIGURA 3.1. Ciclo do Nitrogênio.

Também existem algumas formas de perda do N utilizável do solo. São elas: a desnitrificação, a imobilização, a volatilização e a lixiviação. Para ocorrer a desnitrificação o solo deve apresentar condições anaeróbias (sem oxigênio). Sob estas condições microorganismos especializados retiram o oxigênio de que necessitam do nitrato, devolvendo o N gasoso à atmosfera. A imobilização é a indisponibilização do N em uma forma orgânica e geralmente ocorre quando o teor de matéria orgânica do solo possui menos de 1,5% de N. A volatilização é a perda de N na forma de amônia em solos com altas temperaturas. Finalmente, o N também pode ser facilmente lixiviado na forma de nitrato, o qual pode atingir os lençóis subterrâneos, contaminando-os (KINCHELOE, 2004).

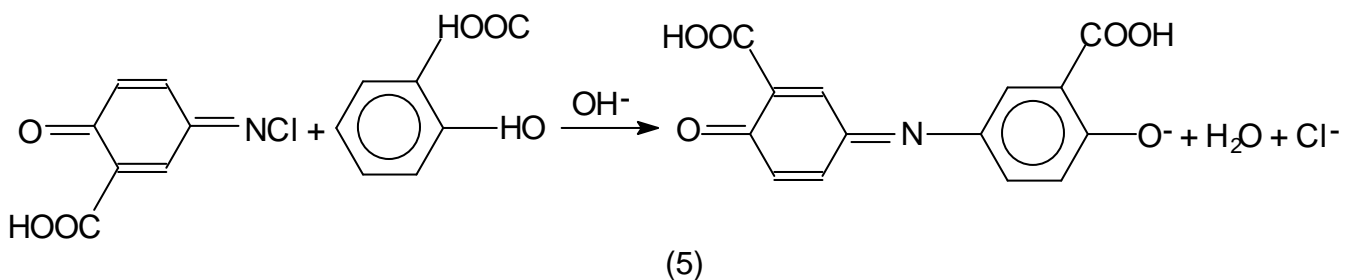
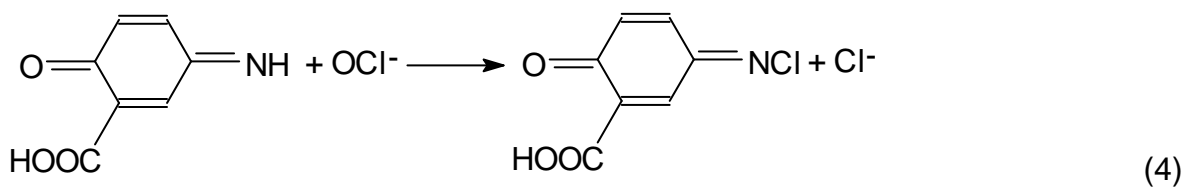
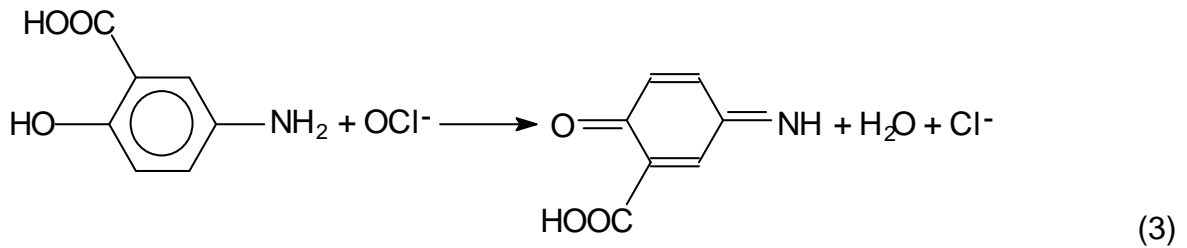
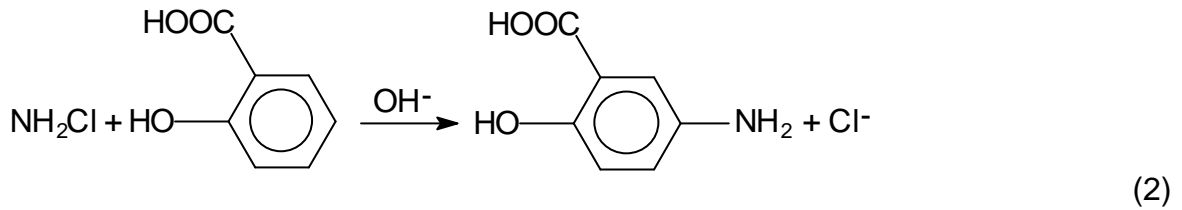
3.1.4.3 – Determinação de Nitrogênio em Amostras Agronômicas

A quantidade e frequência de aplicação dos fertilizantes em geral dependem de parâmetros controlados à medida que o cultivo evolui, realizando-se análises foliares e no solo. Vários métodos foram desenvolvidos para a determinação direta do nitrogênio em digeridos de plantas e extratos do solo. Entretanto, essa determinação é geralmente realizada através da estimativa da amônia liberada por destilação do digerido ou extrato com álcali forte, o qual é coletado em ácido bórico e titulado com ácido padronizado – método de Winkler (Kjeldhal modificado). Outros métodos existentes baseiam-se na utilização de eletrodos íon-seletivos (ISE) às formas inorgânicas do nitrogênio (ISE-NH₄⁺, ISE-NO₃⁻ e ISE-NO₂⁻), realizando-se as medidas sobre os extratos (PAGE et al., 1982).

Porém, o procedimento mais específico e sensível para determinação da concentração de nitrogênio em fluidos biológicos, águas naturais e domésticas e extratos de solo baseia-se na formação de uma intensa coloração proveniente do complexo azul de indofenol entre o íon amônio e compostos fenólicos na presença de um agente oxidante como o hipoclorito, primeiramente publicado por Berthelot (KEMPERS e KOK, 1989). O mecanismo de reação é complexo e a sensibilidade da reação é dependente do pH, da temperatura, da ordem de adição e da concentração dos reagentes (NOGUEIRA et al., 1996).

As etapas da reação incluem a formação da monocloramina a partir da amônia e de cloro, a qual, com o salicilato, forma o fenol amino-substituído 5-aminosalicilato (5-amino-2-hidrobenzoato); posteriormente, após a oxidação, complexa-se com salicilato para formar um indofenol altamente conjugado de coloração azul intensa. O nitroprussiato estabiliza a monocloramina a altos valores de pH necessários para a formação do indofenol, aumenta a taxa de formação do 5-aminosalicilato e está envolvido na oxidação do último antes do acoplamento com o salicilato para formar o indofenol. O nitroprussiato também previne que a amônia se volatilize durante a reação pela incorporação desta ao ligante (KEMPERS e KOK, 1989). A seguir observam-se as etapas descritas anteriormente, em sequência.





3.1.5 – Potássio no solo

O potássio (K) é um nutriente essencial para o crescimento das plantas, sendo classificado como um macronutriente, assim como o nitrogênio (N) e o fósforo (P). O potássio é absorvido pelas plantas em sua forma iônica (K^+) (THOMPSON, 2004).

3.1.5.1 – Formas de potássio no solo

O potássio é abundante na natureza, compreendendo aproximadamente 2,4% da crosta terrestre. Todo o potássio naturalmente presente no solo é originado do intemperismo e decomposição de feldspatos potássicos e micas. Entretanto, apenas uma pequena porcentagem é disponível para as plantas durante a estação

de crescimento – provavelmente menos de 2%. O potássio no solo se apresenta em três formas: não disponível, lentamente disponível e disponível (LOPES, 1989).

O potássio na forma não disponível compreende entre 90 e 98% da quantidade total de potássio no solo, geralmente encontrado na forma de minerais primários insolúveis tais como os feldspatos e as micas. Esses minerais consistem de silicatos de alumínio e potássio, os quais são resistentes à decomposição química. As plantas não podem usar o K nesta forma cristalina e insolúvel. Após longos períodos de tempo, estes minerais submetidos aos intemperismos liberam o K. Porém, este processo é muito lento para prover o K necessário ao suprimento dos cultivos. À medida que os minerais potássicos são intemperizados, uma certa quantidade de potássio torna-se lentamente disponível e uma outra quantidade prontamente disponível (CASFS, 2004).

A forma do potássio caracterizada como lentamente disponível compreende de 1 a 10% do suprimento total de potássio no solo e pode ser originada do material mineral primário dissolvido, bem como de fertilizantes potássicos (THOMPSON, 2004). As plantas não podem usufruir muito do K lentamente disponível durante uma única estação de crescimento. Essa forma não é detectada pelos procedimentos rotineiros de análise de solo. O potássio lentamente disponível também pode servir como um reservatório para o potássio prontamente disponível. Enquanto o potássio lentamente disponível pode ser liberado para o uso pela planta durante o período de crescimento, parte do potássio disponível também pode ser fixado entre as camadas dos minerais e assim ser convertido em potássio lentamente disponível (CASFS, 2004).

Já o potássio na forma disponível compreende somente 0,1 a 2% da quantidade total no solo e consiste de potássio dissolvido na solução do solo ou ligado às posições de troca na argila e na matéria orgânica. Essa forma é denominada de “trocável” porque pode ser substituída por outros cátions como o hidrogênio, o cálcio e o magnésio, ocorrendo de maneira rápida e freqüente (THOMPSON, 2004). As plantas absorvem rapidamente o potássio dissolvido na solução do solo. Assim que a concentração de potássio na solução do solo cai, mais potássio é liberado dos minerais (potássio lentamente disponível). Essa é a forma de potássio medida pelos procedimentos rotineiros de análise de solo (CASFS, 2004).

3.1.5.2 – Movimento do potássio no solo

É vital a manutenção dos níveis adequados de potássio no solo, porque ele não se movimenta muito. Ao contrário do nitrogênio e de alguns outros nutrientes, o potássio tende a permanecer onde é colocado através da adubação. Quando o potássio se movimenta, isso ocorre geralmente por difusão ou lixiviação, lentamente e a curtas distâncias, através de filmes de água que circundam as partículas do solo. As condições de seca diminuem este movimento e os altos níveis de potássio no solo aceleram (LOPES, 1989).

3.1.5.3 – Análise de potássio em solos

Essa é uma área onde geralmente são encontrados alguns problemas. Os procedimentos de análises de solo para fins de fertilidade normalmente recomendados pelos programas interlaboratoriais determinam somente o potássio presente nos reservatórios de potássio disponível, não fornecendo informações quanto ao teor do potássio lentamente disponível, que constitui um reservatório importante e atuante como um tampão contra a remoção de potássio nos solos. Esse reservatório tem sido dizimado com o passar dos anos de uso agrícola do solo, especialmente em cultivos irrigados e com altas taxas de remoção do potássio, situação potencializada pela incapacidade das análises de solo de detectar essas mudanças (BELL e MOODY, 2004).

Existem vários procedimentos empregados na determinação de potássio, diferenciando-se entre si pela informação que cada um pode fornecer relevante ao tipo de potássio determinado ou ao solo analisado. Para a determinação do teor total, recorre-se a um método de digestão do solo. O método mais amplamente utilizado usa da combinação dos ácidos fluorídrico e sulfúrico (ou perclórico) (PAGE et al., 1982). Entretanto, quando se trata de análise de potássio para fins de fertilidade, geralmente o interesse maior cai sobre os teores de potássio trocável e solúvel em água.

A partir daí vários são os procedimentos desenvolvidos para a extração dessas frações de potássio no solo. Entre os mais utilizados estão a extração com uma solução neutra de acetato de amônio (PAGE et al., 1982) ou cloreto de amônio (VAN RAIJ et al., 2001), extração com resina trocadora de íons (VAN RAIJ et al., 2001), além da extração com ácido sulfúrico diluído a frio e extração com ácido

nítrico a quente (PAGE et al., 1982). Para determinação do potássio extraído geralmente se utiliza um método espectrofotométrico (fotometria de chama ou absorção atômica), no comprimento de onda de 766,5 nm (PAGE et al., 1982).

3.1.6 – Reações dos solos

Muito embora o termo “reações dos solos” possa dar a idéia do estudo de tudo o que ocorre relacionado às reações químicas nos solos e respectivas cinéticas, ele se refere ao estudo das reações que envolvem a acidez e a basicidade dos solos. O equilíbrio ácido-base encontra-se associado à quase todos os processos que ocorrem no interior dos solos. Assim atua diretamente nas propriedades físicas e químicas com influência e conseqüências fortes sobre os aspectos biológicos do ambiente (LUCHESE et al., 2002).

3.1.6.1 – pH do solo

A maioria dos solos produtivos varia entre os valores de pH 4 e 9 (LOPES, 1989). Quando os colóides do solo estão saturados com íons H^+ , eles se comportam como um ácido fraco. Quanto maior a proporção de íons H^+ ligados aos complexos de troca do solo em relação aos íons básicos (Ca, Mg, K), maior será a acidez do solo (SNYDER, 2004). O Al também contribui para a acidez do solo, mas por simplificação a discussão sobre acidez do solo será limitada ao hidrogênio como a causa da acidez.

3.1.6.2 – Fatores que influenciam o pH do solo

O grau de acidez ou de alcalinidade do solo é influenciado pelos tipos de materiais de origem do solo. A chuva também afeta o pH do solo. A água passando pelo solo, lixivia os nutrientes básicos, como o cálcio e o magnésio. Eles são substituídos por elementos acidificantes como o hidrogênio, o manganês e o alumínio (LOPES, 1989). Assim sendo, solos formados em condições de alta pluviosidade são mais ácidos que aqueles formados em condições áridas. Entretanto, uma agricultura intensiva realizada em um solo básico, durante um certo

tempo e com a aplicação de fertilizantes nitrogenados, pode vir a causar a acidificação do solo (SNYDER, 2004).

Os solos podem tornar-se mais ácidos quando as colheitas removem os cátions básicos. Culturas diferentes removem quantidades diferentes de cálcio e magnésio. A acidez também aumenta com a profundidade do solo, exceto em áreas de baixa pluviosidade. A perda do solo superficial por erosão pode aumentar a acidez na camada arável. Existem casos em que o pH do subsolo é mais elevado do que o solo superficial. Como resultado a erosão poderia contribuir para elevar os valores de pH do solo (LOPES, 1989).

3.1.6.3 – Acidez do solo

Acidez se refere à condição que o solo apresenta quando o complexo de troca é dominado por íons de hidrogênio e alumínio. Existem duas formas de acidez cujas definições técnicas são:

- **Acidez trocável:** o alumínio e parte do hidrogênio podem ser substituídos de um solo ácido por uma solução salina não tamponada, como KCl ou NaCl;
- **Acidez total:** inclui a acidez trocável e a acidez residual. Frequentemente é calculada pela subtração entre as bases trocáveis e a CTC determinada pela troca com amônio a pH 7,0 (CASFS, 2004).

Entre as fontes de acidez no solo, três principais são identificadas: (a) acidez advinda das argilas; (b) acidez advinda dos grupos ácidos da matéria orgânica; (c) acidez advinda dos ácidos solúveis no solo. Nas argilas podem-se diferenciar dois tipos de fontes de acidez. A primeira é derivada dos íons H^+ e Al^{3+} dos sítios de troca da superfície ativa da argila, denominada de acidez potencial. A acidez da solução do solo é denominada de acidez ativa. A segunda provém da presença dos grupos $-SiOH$ e $-AlOH$ estruturais nas superfícies dos minerais argilosos e óxidos de Fe e Al (LUCHESE et al., 2002). Esse tipo de material apresenta adsorção dos íons H^+ e Al^{3+} através de processos não seletivos (TAN, 1983).

A matéria orgânica contribui para a acidez do solo, pois sua superfície se apresenta repleta de grupos funcionais, dos quais, os mais importantes são os grupos carboxílicos e os fenólicos (LUCHESE et al., 2002). Esses colóides orgânicos

exibem adsorção preferencial pelos H^+ e são considerados mais difíceis de serem trocados por outros cátions (TAN, 1983). Já a origem dos ácidos solúveis no solo é variada. Algumas fontes são do próprio solo e outras são de origem antrópica. Entretanto, algumas podem ser citadas, tais como a aplicação de adubos acidificantes e a mineralização da matéria orgânica (LUCHESE et al., 2002).

Alguns problemas são associados à elevação da acidez do solo, principalmente problemas relacionados com toxicidade às plantas. O alumínio, por exemplo, terceiro elemento mais comum na crosta terrestre, torna-se mais disponível a baixos valores de pH, podendo ser tóxico às plantas (Figura 3.2). A toxicidade por manganês também é identificada e ocorre em solos com grande teor desse elemento e que possuem pH menor que 5 (CASFS, 2004).

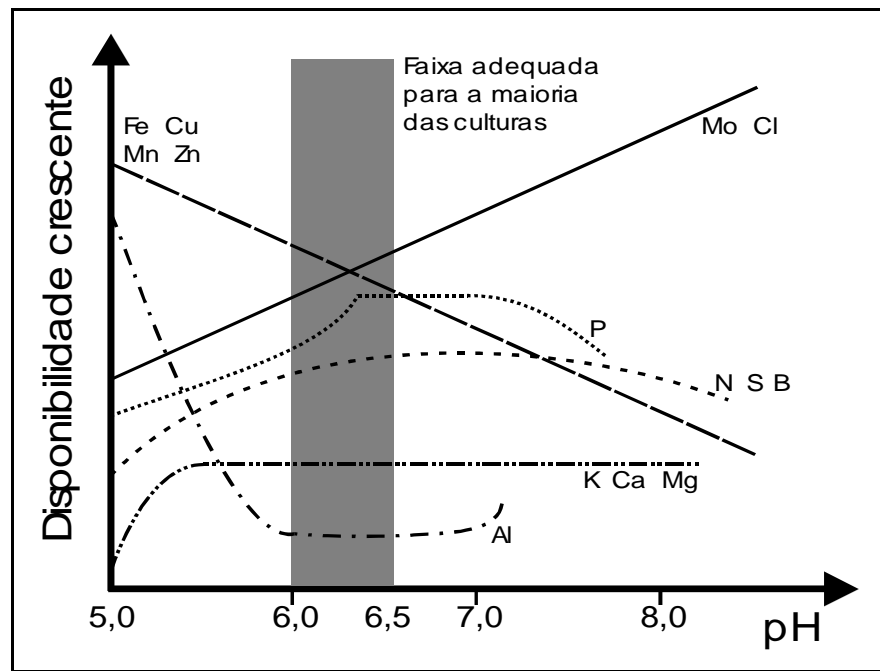


FIGURA 3.2. O pH e a disponibilidade dos elementos no solo.

Em solos ácidos os organismos responsáveis pela decomposição da matéria orgânica e pela liberação de nitrogênio, fósforo e enxofre podem ter pouca atividade. Além disso, os solos argilosos, com alta acidez, são menos agregados, causando baixa permeabilidade e aeração (LOPES, 1989). Entre os problemas ainda pode-se destacar a disponibilidade reduzida de alguns nutrientes como o molibdênio e o fósforo, de acordo com a Figura 3.2..

3.1.6.4 – Capacidade tampão do solo

Solução tampão é aquela que resiste à alteração do pH quando lhe é adicionado um ácido ou uma base forte. Da mesma forma, a capacidade tampão dos solos refere-se a sua capacidade de resistir a aplicação de ácidos, ou bases, sem sofrer grandes alterações de pH (LUCHESE, 2002).

Em solos, as argilas e a matéria orgânica atuam como sistemas tampão. Os complexos de troca catiônica existentes no solo geram o desenvolvimento da acidez potencial e da acidez ativa. A acidez potencial irá manter o equilíbrio com a acidez ativa. Se a acidez ativa é neutralizada pela adição de um corretivo, a acidez potencial irá liberar H^+ trocável até que seja atingido um novo equilíbrio com a solução do solo e nenhuma mudança na reação do solo ocorra até que a reserva de H^+ seja exaurida. A capacidade tampão pode ser estimada a partir da capacidade de troca de cátions e é maior em solos argilosos que em solos arenosos, podendo chegar a 100.000 vezes maior que a acidez ativa (TAN, 1983).

3.1.6.5 – Determinação do pH do solo

Os dois métodos mais comumente utilizados para a determinação do pH do solo são o colorimétrico e o potenciométrico. O método colorimétrico envolve indicadores e é freqüentemente utilizado em campo para fazer uma rápida determinação de pH. O método mais difundido é o potenciométrico. O pH do solo é determinado através da colocação de uma suspensão de solo com água destilada em contato com um eletrodo de vidro e da leitura do resultado em uma escala de 0 a 14 (LOPES, 1989).

Muitos são os fatores que influenciam na determinação do pH nos solos, dentre os quais podem ser citados como principais (LUCHESE et al., 2002):

- O efeito de sais solúveis que fazem com que o pH medido seja inferior ao real. Para minimizar esse efeito, pode-se substituir a água por uma solução salina como extrator de solos. A determinação com solução salina geralmente apresenta um valor de pH inferior ao determinado com a água na ordem de 0,5 a 1,0 unidade de pH;
- O efeito do local de coleta da amostra. Amostras coletadas próximo da superfície de raízes podem apresentar valores de pH inferiores aos previstos; amostras coletadas próximas a grânulos de fertilizantes podem

apresentar pH alterado devido à ação do fertilizante; amostras coletadas próximas a porções de matéria orgânica em decomposição, podem apresentar pH alterado devido aos processos de decomposição.

3.1.7 – O Fósforo e a Fertilidade do Solo

Entre os macronutrientes, o fósforo é exigido em menores quantidades pelas plantas. Mesmo assim, trata-se do nutriente mais usado em adubação no Brasil. Explica-se essa situação pela carência generalizada de fósforo nos solos brasileiros e, também, porque o elemento possui forte interação com o solo (VAN RAIJ, 1991). Adicionalmente, com a possível exceção do nitrogênio, nenhum outro elemento faz tamanha falta ao crescimento vegetal quanto o fósforo, pois a ausência deste elemento também impede a assimilação de outros nutrientes pelos vegetais. A importância do fósforo para a fertilidade do solo é tamanha que o mesmo foi o primeiro elemento a ser suprido como produto manufaturado, na forma de superfosfato (BRADY, 1983).

3.1.7.1 – Formas e Movimentação do Fósforo nos Solos

O fósforo elementar é muito reativo quimicamente. Assim, ele não é encontrado em estado puro na natureza, somente em combinações químicas com outros elementos. A maior parte do fósforo do solo é proveniente da intemperização da apatita, um mineral que contém fósforo e cálcio. Outras fontes de fósforo incluem a matéria orgânica, o húmus, os microorganismos e formas de vida em decomposição (LOPES, 1989). Tanto as formas inorgânicas quanto as orgânicas são importantes para os vegetais, como fontes deste elemento. Há, no entanto, grande deficiência de informações no que se refere às proporções destas duas formas nos diferentes tipos de solos (BRADY, 1983).

As plantas absorvem o fósforo do solo, especificamente da solução do solo. O fósforo encontra-se na solução do solo como íons ortofosfato, forma derivada do ácido ortofosfórico, H_3PO_4 . O pH do solo tem grande influência na disponibilidade de P para as plantas, sendo determinantes na definição da forma química a ser absorvida. Em níveis intermediários de pH estão presentes duas formas de íons fosfato - $H_2PO_4^-$ e HPO_4^{2-} . Entretanto, o íon $H_2PO_4^-$ é considerado mais assimilável

pelos vegetais (VAN RAIJ, 1991; MALAVOLTA, 1996). A máxima disponibilidade ocorre nos valores de pH entre 6,5 e 7,2. Em solos neutros ou levemente alcalinos, o P está geralmente na forma de fosfato de cálcio, enquanto em solos ácidos tem-se fosfatos de ferro ou alumínio.

Os teores de fósforo na solução do solo são, em geral, baixos (normalmente em valores inferiores a $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de P), em decorrência da baixa solubilidade dos compostos de P existentes no solo e da alta capacidade de adsorção do elemento pelas partículas do solo. Os teores totais de P no solo variam de pouco mais de zero, em solos arenosos, até valores de 0,2 a 0,3% de P (VAN RAIJ, 1991).

Uma abordagem das formas de fósforo no solo, mais aplicável à nutrição de plantas, reconhece três frações, ou seja, P em solução, o P lábil e o não-lábil, apresentados no ciclo do P no solo (Figura 3.3). Fosfatos adicionados ao solo como fertilizantes dissolvem-se, passando à solução do solo. A maior parte do elemento passa à fase sólida, onde fica em parte como fosfato lábil, passando gradativamente a fosfato não-lábil. O fosfato lábil pode ser novamente dissolvido, caso haja necessidade de manutenção do equilíbrio com a fase aquosa do solo, cuja diminuição do teor de fósforo é resultado da retirada do elemento pelas plantas. A lixiviação nas águas de drenagem é mínima, devido aos baixos teores do elemento existentes no solo (VAN RAIJ, 1991).

Em solos tropicais, o fósforo movimenta-se muito pouco e geralmente permanece onde é colocado. A erosão superficial pode remover partículas de solo contendo fósforo, sendo que a erosão e a remoção pelas culturas são as únicas formas significativas de perdas de fósforo no solo. Quase todo o fósforo movimenta-se no solo por difusão, um processo lento e de pouca amplitude, dependente da umidade do solo. Em termos práticos, isto significa que o solo precisa estar adequadamente suprido com fósforo para suportar o ótimo crescimento da cultura. O nível de fósforo na solução do solo deve ser suficientemente alto para garantir que haja fósforo disponível durante todos os estágios de crescimento (LOPES, 1989).

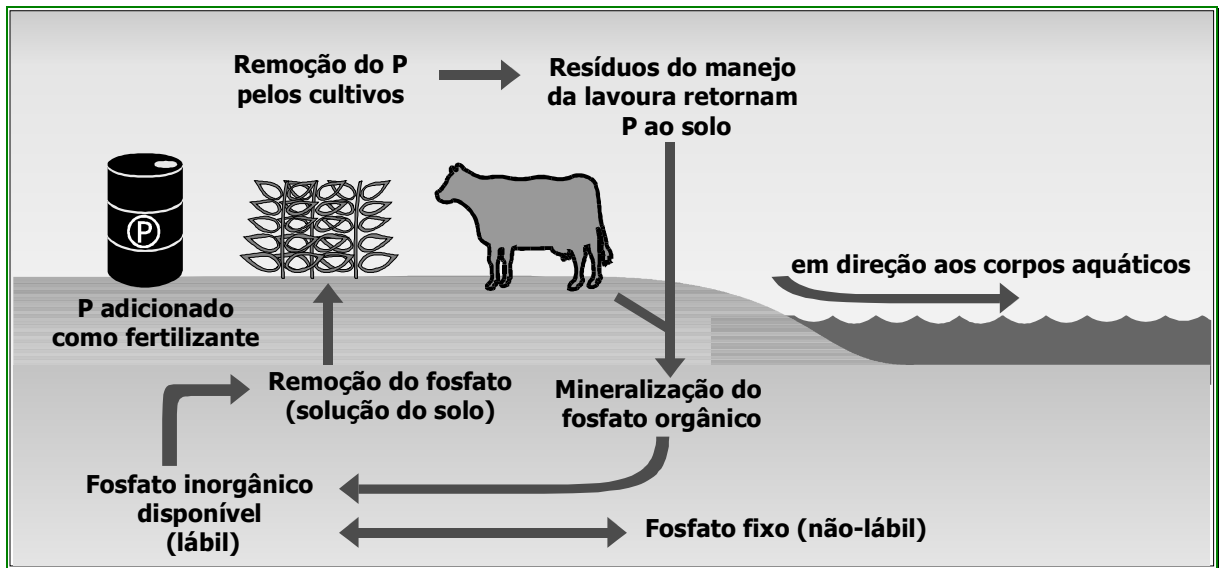


FIGURA 3.3. Ciclo do fósforo no solo.

3.1.7.2 – Análise de Fósforo em Solos

Só uma pequena proporção do fósforo total no solo está prontamente disponível e diversos esforços têm sido dedicados na tentativa de desenvolver métodos de análise que predigam esta quantidade de forma confiável. A maioria dos métodos produz como resultado apenas uma estimativa do teor de fósforo na solução do solo e nos reservatórios prontamente disponíveis. Existe uma variedade muito grande de métodos usados atualmente, envolvendo a extração do fósforo com soluções extratoras ou resinas de troca iônica, o que não deixa de ser um reflexo da complexidade do comportamento do elemento, bem como da falta de concordância sobre o que seria o método mais adequado (VAN RAIJ, 1991; JOHNSTON, 2000).

O problema reside no processo de extração. Os diferentes métodos não dão, em geral, resultados idênticos, o que dificulta comparações. Na maioria dos casos, os métodos de análise de solo são bastante empíricos, não tendo ainda incorporado os melhores conhecimentos que se tem sobre o comportamento do fósforo no solo (VAN RAIJ, 1991). Soluções das mais diversas têm sido usadas, incluindo água, soluções tamponadas de ácidos fracos, soluções diluídas de ácidos fortes, soluções tamponadas de bases e soluções de sais diversos, isso com várias alternativas de concentração, de pH, relação de soluções para solo, tempos de agitação etc. Cada mudança na técnica de extração leva a resultados diferentes, o que faz com que haja necessidade de padronizar cada método de extração e

calibrá-lo regionalmente. Quando isso é feito, pode-se chegar a resultados razoáveis do ponto de vista prático, embora comparações entre regiões que usam diferentes métodos fiquem prejudicadas (VAN RAIJ, 1991).

Inúmeros trabalhos têm sido realizados em diferentes países, visando identificar os melhores métodos para determinação de P. Os resultados apontam para a superioridade do método da resina de troca iônica e, aparecendo em segundo lugar o método de Olsen, que emprega extração com bicarbonato de sódio 0,5 N a pH 8,5 (VAN RAIJ, 1991).

3.1.8 – Cálcio e Fertilidade do Solo

Junto com o magnésio e o enxofre, o cálcio é conhecido como macronutriente secundário. São tão importantes para a nutrição das plantas quanto os nutrientes primários, apesar das plantas, de modo geral, não os exigirem em grandes quantidades. As deficiências dos nutrientes secundários podem reduzir o crescimento das plantas tanto quanto as dos nutrientes primários (LOPES, 1989).

O cálcio contribui para a formação da fertilidade do solo da seguinte forma (MALAVOLTA, 1996):

- é essencial para os microrganismos que transformam os restos de cultura em matéria orgânica, libertam os nutrientes e aumentam a estrutura e a capacidade de retenção de água dos solos.
- ajuda a bactéria *Rhizobium* a fixar melhor o nitrogênio atmosférico (N) em formas que as plantas leguminosas podem utilizar.
- aumenta a absorção de todos os outros nutrientes pelas raízes e o seu transporte para os outros órgãos da planta (caule, ramos, folhas, frutos).

3.1.8.1 – Forma do Cálcio no Solo

O cálcio ocorre no solo na forma catiônica, Ca^{2+} . Ele é governado pelo fenômeno da troca de cátions como os outros cátions, e é geralmente o cátion dominante no solo, mesmo em solos com valores baixos de pH. Como outros cátions, está presente na solução do solo e é retido com Ca^{2+} trocável na superfície negativamente carregada da argila e da matéria orgânica. Na solução do solo, o

cálcio está presente com concentrações em torno de 30 mg L⁻¹. As quantidades totais de cálcio no solo variam de menos de 0,1% a 25%. Os solos calcários, áridos, contêm maiores níveis deste nutriente. Os solos orgânicos recentemente drenados, geralmente contêm muito pouco cálcio e apresentam valores de pH extremamente baixos (LOPES, 1989). O cálcio movimenta-se no solo também por difusão, assim como o fósforo e o potássio, sendo que o fluxo de massa pode chegar a 120 kg ha⁻¹ de cálcio transportado através do sistema radicular das plantas.

3.1.8.2 – Análise de Cálcio em Solos

Para a análise de cálcio em solos, determina-se o teor trocável mais o solúvel, considerado na prática como teor trocável, já que o solúvel é, em geral, muito baixo. As necessidades das plantas não são das mais elevadas, em relação aos teores existentes, principalmente porque os solos com teores baixos do elemento são também muito ácidos. Assim, a acidez dos solos quase sempre limita muito mais o crescimento que falta de cálcio. Isso tem dificultado o isolamento do efeito do cálcio, como nutriente, da ação de neutralização da acidez com produtos que contêm cálcio, como os calcários (VAN RAIJ, 1991).

Muitos laboratórios do mundo nem determinam o cálcio, considerando que, com a correção da acidez e a aplicação de adubos, haverá adições suficientes do elemento. De qualquer forma, exceto para culturas que têm exigências especiais em cálcio (tomate, citros, amendoim, maçã etc.), é muito rara a deficiência de cálcio em condições de campo (VAN RAIJ, 1991).

A solução extratora mais utilizada é o acetato de amônio normal a pH 7. Contudo, inúmeros outros processos de extração, como soluções salinas, ácidos diluídos ou resina trocadora de íons, dão resultados equivalentes (VAN RAIJ, 1991). Na verdade, a resina trocadora tem sido preferida, uma vez que a sua utilização permite a extração simultânea dos íons de interesse analítico em solo, tais como o potássio, o fosfato e o magnésio.

3.1.9 – Determinações de Propriedades Físicas do Solo (temperatura e umidade)

Temperatura é um conceito largamente utilizado para caracterizar as propriedades térmicas de um sistema. A significância da temperatura na área agrícola dispõe da influência desta não só no crescimento da planta, mas em todos os processos químicos, físicos e microbiológicos. A temperatura não pode ser medida diretamente, mas sim estimada através de sua influência na variação de alguma propriedade do material utilizado na determinação. Existem vários tipos de termômetros que podem ser usados na medida da temperatura de solos. Alguns dos mais usados são o de mercúrio ou qualquer outro líquido em vidro, o bimetálico, o bourdon e o de resistência elétrica. A escolha do termômetro adequado a uma dada aplicação depende, além de outras coisas, da disponibilidade, da precisão requerida, da acessibilidade ao local de estudo e do tamanho físico (PAGE et al., 1982).

Já a determinação da quantidade de água (umidade) no solo é necessária em praticamente todo tipo de estudo em ciência do solo. No campo, o conhecimento da disponibilidade de água para o crescimento do cultivo requer a medida direta da quantidade de água ou de algum índice que se relacione a ela. Em trabalhos com solo, a umidade tem sido expressa tradicionalmente como a relação entre a massa de água presente na amostra e a massa da amostra após secagem até peso constante. Geralmente esse parâmetro é dado como um valor adimensional, advindo da divisão entre duas massas ou dois volumes, ou é dado em massa por unidade de volume. Quando os valores adimensionais são multiplicados por 100, tais valores tornam-se percentagens em massa ou volume. Se não é mencionada a base do cálculo, então se considera como percentagem em massa (PAGE et al., 1982).

A determinação do conteúdo de água no solo é realizada por métodos diretos ou indiretos. Os métodos diretos são aqueles nos quais a água é removida da amostras por evaporação, lixiviação ou reação química, com a quantidade removida sendo determinada por um dos seguintes métodos:

- Medida da perda de massa da amostra;
- Coleta por destilação ou absorção em substância dessecadora;
- Extração da água e medida de alguma propriedade física ou química da substância extratora, que é quantitativamente afetada pela umidade;
- Medida quantitativa dos produtos da reação retirados da amostra.

Já os métodos indiretos de medida da umidade são baseados em certas propriedades físico-químicas do solo que variam com o conteúdo de água, ou na medida de uma propriedade de algum material (geralmente um material absorvente poroso) introduzido no solo, que entra em equilíbrio hídrico com o mesmo. Mudanças nas propriedades elétricas, térmicas ou de massa no material absorvente são indicações do conteúdo de água. O espalhamento de nêutrons e a absorção de raios gama são afetados pelo conteúdo de água do material poroso e podem ser adaptados para a medida da umidade no solo (PAGE et al., 1982).

A necessidade por métodos indiretos de medida da umidade é evidente quando o tempo e o trabalho envolvidos na determinação direta são consideráveis. Além disso, as técnicas diretas são destrutivas e cada amostra deve ser tomada em diferentes locais do solo sob estudo. Muitos dos métodos indiretos permitem medidas contínuas em um mesmo local com pequeno desperdício de tempo. Assim, com uma aceitável curva de calibração disponível, mudanças na umidade com o decorrer do tempo podem ser avaliadas.

Dentre as técnicas de determinação indireta do conteúdo de água no solo, a mais recente e promissora é a refletometria no domínio do tempo (TDR). Foi proposta por TOPP e colaboradores (1980) utilizando equipamento já existente para diagnosticar descontinuidades em cabos e linhas de transmissão de redes telefônicas. Medindo o tempo de propagação na linha de transmissão e, conseqüentemente, a constante dielétrica (ϵ), os autores conseguiram correlacionar a umidade do solo com ϵ . O regime, em freqüência, da técnica TDR está na faixa de microondas (~1,2 GHz) e promove uma forte interação da onda eletromagnética com o movimento vibracional da molécula de água. Assim sendo, o tempo de propagação do pulso (medido entre a inserção na linha de transmissão e a reflexão, devido à descontinuidade no fim da linha de transmissão) irá variar de acordo com a quantidade de água no meio. A condutividade elétrica é outro parâmetro que pode ser obtido através da TDR (CRESTANA et al., 1996; JONES et al., 2002).

Para se realizar a medida é necessário a inserção de uma sonda ou antena (linha de transmissão) no solo. A sonda é projetada para emular uma linha de transmissão de dois fios ou cabo coaxial. Uma sonda que emula um cabo coaxial tem a vantagem de apresentar menor perda de sinal na linha e também do lóbulo de irradiação da onda ficar confinado, basicamente, ao volume da antena (parâmetro importante para medir a umidade volumétrica). Desse modo, considerando-se as

vantagens inerentes da técnica (portabilidade, utilização de radiação não-ionizante, entre outras), pode-se afirmar que o método é uma alternativa viável e promissora para a medida de parâmetros físicos do solo (CRESTANA et al., 1996).

3.2 – Ácido Fítico: importância e métodos de determinação

O ácido fítico é um álcool cíclico derivado da glicose (Figura 3.4). Foi identificado pela primeira vez em 1855 e é caracterizado por possuir 12 hidrogênios ionizáveis em sua estrutura (DE STEFANO et al., 2003). Entretanto, ele pode ser encontrado em diversas formas denominadas fitatos (DE STEFANO et al., 2002). O fitato é a forma majoritária de fósforo na constituição de cereais e legumes (cerca de 85% do conteúdo total de fósforo). Esse composto possui influência significativa sobre as propriedades funcionais e nutricionais dos alimentos e representa o principal estoque de fósforo. Ele desempenha um importante papel no processo de germinação, contribuindo para a viabilidade e vigor das sementes (RABOY, 2003; HARLAND e NARULA, 1999).

Embora o fitato atue como principal fonte de energia e fósforo, o mesmo é pobremente disponível aos animais de estômago mais simples. Assim, o fósforo inorgânico, o qual é parte de minerais não renováveis e é caro, é utilizado como suplemento alimentar na criação de suínos, frangos e peixes, para a complementação de suas necessidades nutricionais. Enquanto isso, o fósforo fítico não utilizado e contido nos excrementos animais está se tornando um importante contaminante ambiental em áreas de criação animal intensiva. Também há a quantidade excessiva de fósforo orgânico levada para os lagos e mares através da lixiviação, levando a eutroficação e estimulação do crescimento de organismos aquáticos capazes de produzir neurotoxinas prejudiciais aos humanos (LEI e PORRES, 2003). No entanto, a manipulação de sementes e grãos que produzam menores teores de fitato poderia apresentar efeitos inaceitáveis na produção agrícola, especialmente nas áreas onde os solos possuem baixa concentração de fósforo ou pequena disponibilidade de micronutrientes (RABOY, 2003).

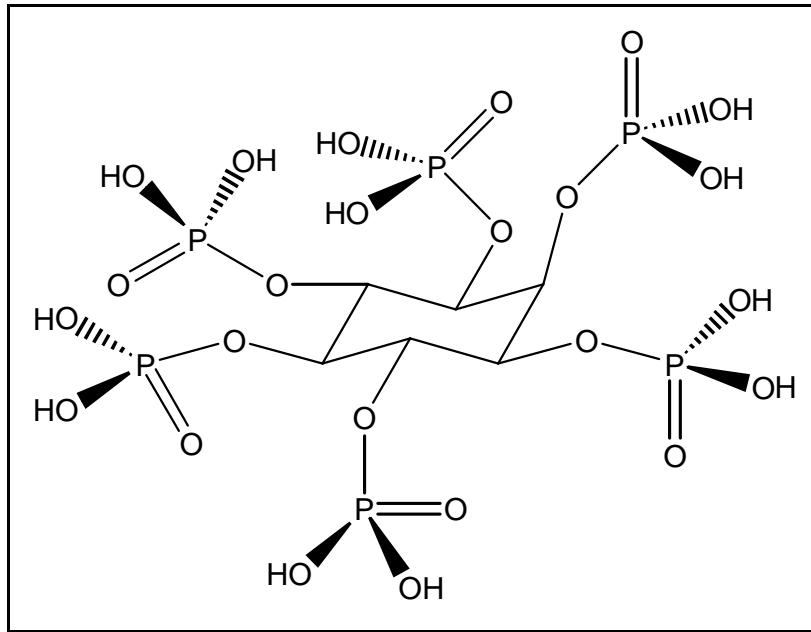


FIGURA 3.4. Estrutura do 1,2,3,4,5,6-hexakis(dihidrogenofosfato) mio-inositol ou ácido fítico.

O fitato também é conhecido como um composto antinutricional devido a sua habilidade de ligação com vários cátions metálicos tais como Ca^{2+} , Na^+ , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} e, particularmente, o Zn^{2+} . Ele modifica a biodisponibilidade nutricional desses íons metálicos (DE STEFANO et al., 2002). A análise de fitato pode ser considerada de difícil realização devido a sua limitada característica espectral e a falta de reagentes específicos. Para a solução deste problema, diversos métodos diretos ou indiretos baseados em técnicas analíticas complexas tem sido propostos. Entre os métodos de análise direta estão a eletroforese capilar acoplada a espectrometria de massa (CE-MS) (BUSCHER et al., 1995), cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (BUIRBANO et al., 1995; SEKIGUCHI et al., 2000), cromatografia gasosa (DEKONING, 1994), espectroscopia no infravermelho próximo (ISHIGURO et al., 2003), espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{31}P (TURNER et al., 2003) ou espectroscopia de massa acoplada a plasma (ICP-MS) (MUÑOZ e VALIENTE, 2003). Os métodos indiretos estão baseados principalmente na hidrólise enzimática dos fitatos a mio-inositol e fosfato utilizando a fitase, seguida de uma determinação do fosfato através de espectrofotometria UV-visível (VIEIRA e NOGUEIRA, 2004). Entretanto, métodos simples, rápidos, confiáveis e de baixo custo para a determinação de fitato em rotina ainda se fazem necessários para uma grande gama de aplicações.

3.3 – Agricultura de Precisão

Nos últimos 50 anos, a agricultura mundial tem experimentado enormes mudanças. Nos países desenvolvidos foram criados modernos sistemas agrícolas com alta produtividade e tecnologia avançada. Enquanto isso, nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, a população ainda está arraigada na agricultura convencional, devido à defasagem tecnológica em ciências agrárias e ao apoio limitado à agricultura por parte dos governos (MAOHUA, 2001).

A renovação da forma tradicional de cultivo através das técnicas de agricultura de precisão é um objetivo estratégico e está trazendo a agricultura à era digital. Baseado nas práticas da agricultura de precisão, é possível integrar um conjunto de tecnologias para melhorar a forma de cultivo tradicional em acordo com as condições locais. Essa é a grande proposta atual para resolver o equacionamento da máxima produtividade com mínimos danos ambientais, devido à alocação adequada de insumos (AUERNHAMMER, 2001).

Visto como um sistema de gerenciamento, a agricultura de precisão é uma seqüência de atividades que, na sua maioria, exige ferramentas sofisticadas e domínio de novos conhecimentos. Como aplica a tecnologia de informação ao agronegócio para possibilitar o gerenciamento de informações georeferenciadas, essa nova filosofia no campo pode ser chamada também de Agricultura da Informação, visto que faz uso das informações advindas de várias áreas do conhecimento (Ciências do Solo, Computação, Ciências Exatas etc.). Neste século, o homem está em plena era da informação e do conhecimento e a escassez de informação tem-se tornado uma nova forma de restrição social e econômica para os países em desenvolvimento. Entretanto, os desafios e as oportunidades coexistem, devendo aos países o planejamento de suas próprias estratégias de utilização das oportunidades vislumbradas pela era da informação.

O primeiro uso do termo agricultura de precisão foi em 1929, nos Estados Unidos, quando pesquisadores tentaram fazer uma aplicação localizada de calcário, como forma de minimizar o uso deste insumo durante a aplicação (HURN, 1996). No início do século XXI, STRAUCH (2003) define a agricultura de precisão como um conjunto de tecnologia capaz de auxiliar o produtor rural a identificar as estratégias a serem adotadas para aumentar a eficiência no gerenciamento da agricultura, maximizando a rentabilidade das colheitas e tornando o agronegócio mais

competitivo. Isso possibilita otimizar o uso dos recursos edafoclimáticos e minimizar os insumos utilizados no sistema de produção de um local.

O efeito destas práticas é retornar ao estágio anterior ao desenvolvimento da agricultura mecanizada, onde o cultivo era realizado minuciosamente e o agricultor observava diretamente o progresso de cada parte do campo. Com o advento da mecanização agrícola, houve a remoção do agricultor do contato direto com o campo, resultando em consideráveis economias de tempo e trabalho, com a aplicação de insumos de forma uniforme (PLANT, 2001). Porém, essa prática causou uma redução da eficiência no uso dos mesmos, com a aplicação de forma desapropriada em algumas partes do campo, gerando desperdícios, com aumento nos custos da produção e desvantagens ambientais (MULLA e SCHEPERS, 1996). Aliás, a agricultura de precisão, como é concebida hoje, tem suas raízes na pressão por uma agricultura menos agressiva ao meio ambiente nos países europeus e logo em seguida nos Estados Unidos. A necessidade da dosagem de corretivos e fertilizantes que permitam maximizar a produção, sem que potenciais excedentes de fertilizantes e defensivos comprometam a qualidade, especialmente da água, foi o carro-chefe no desenvolvimento do manejo espacialmente diferenciado auxiliado pela tecnologia.

Toda a logística desse novo método de trabalho em agricultura está num ciclo de atividades que vão da coleta dos dados de interesse em campo, seguidos da construção dos mapas de produtividade e outros indicadores, da análise desses mapas, diagnóstico (identificação das causas da baixa produtividade onde ela se manifestar) até a correção pontual das variáveis que apresentaram influência sobre a produtividade do cultivo. É consenso que o mapa de colheita é a informação mais completa para se visualizar a variabilidade espacial das lavouras. Sem dúvida, a melhor informação do resultado de uma lavoura é o total colhido. Entretanto, sabe-se que é uma informação que apresenta suas limitações e erros. Várias outras ferramentas estão sendo propostas e testadas, visando sempre identificar a variabilidade existente em uma área, como as fotografias aéreas, as imagens de satélite e a localização de focos de infestação de doenças ou pragas invasoras. Existem três modos de se conhecer tal variabilidade: continuamente (monitoramento), discretamente (amostragem pontual do solo ou do cultivo) e remotamente (através de fotografias aéreas). Como a agricultura de precisão está objetivada na influência da variabilidade espacial das propriedades do cultivo sobre

o rendimento da produção, o monitoramento é o coração desta prática (PLANT, 2001). Essa nova prática tem feito uso de tecnologias tais como o sensoriamento remoto, os sistemas de informações geográficas (GIS), o sistema de posicionamento global (GPS), sensores em tempo real ou quase-real, entre outras.

A técnica que tem se tornado bastante popular e que se soma às informações da cultura é a geração do mapa individual para cada indicador da fertilidade do solo (parâmetros físico-químicos e biológicos). Para isso é necessário um certo investimento na coleta de amostras em um dado quadriculado com a localização do amostrador via GPS. Esse é um ponto de estrangulamento do processo, a caracterização da fertilidade do solo. O sistema hoje adotado é fazer amostragem em grande quantidade, tirando amostras de locais conhecidos para então gerar os mapas de fertilidade. Esse processo é trabalhoso e caro. Outro grande desafio que existe é a automação dessa etapa de amostragem e a caracterização da fertilidade do solo. Poder acompanhar o crescimento e o desenvolvimento de uma cultura com o monitoramento direto, em condições de campo, é o objetivo final, que irá permitir a tomada de decisões e o estabelecimento de critérios, visando o manejo racional, a sustentabilidade e a preservação do meio ambiente (Figura 3.5). Alguns passos até já foram dados nesse sentido, porém há muito ainda por ser feito.

Entre as estratégias adotadas, a utilização de sensores de contato direto está no início de seu desenvolvimento. Existem poucos dispositivos comerciais ou descritos na literatura. Atualmente, em estações meteorológicas ou agrícolas os sensores empregados são desenvolvidos para medir parâmetros como temperatura, umidade relativa, pressão, velocidade e direção do vento, radiação solar, radiação UV, condutividade elétrica e quantidade de chuvas. Os únicos parâmetros que podem ser relacionados indiretamente com o conteúdo dos nutrientes são os de variáveis físico-químicas não específicas como umidade, temperatura e condutividade. Graças ao uso destes sensores, até o momento podem-se construir mapas de qualidade, distribuição e composição do solo, embora com informações não específicas e precárias (ARTIGAS, 2003). Para a melhoria das informações geradas seria interessante, e em alguns casos necessário, ampliar a quantidade de dispositivos, implementando sensores químicos de parâmetros chave para a determinação da fertilidade de um solo tais como o pH, o nitrato, o potássio e o fosfato. O uso de sondas fáceis de se instalar, econômicas e robustas permitiria o

monitoramento destes parâmetros tanto temporal quanto espacialmente (ARTIGAS, 2003).

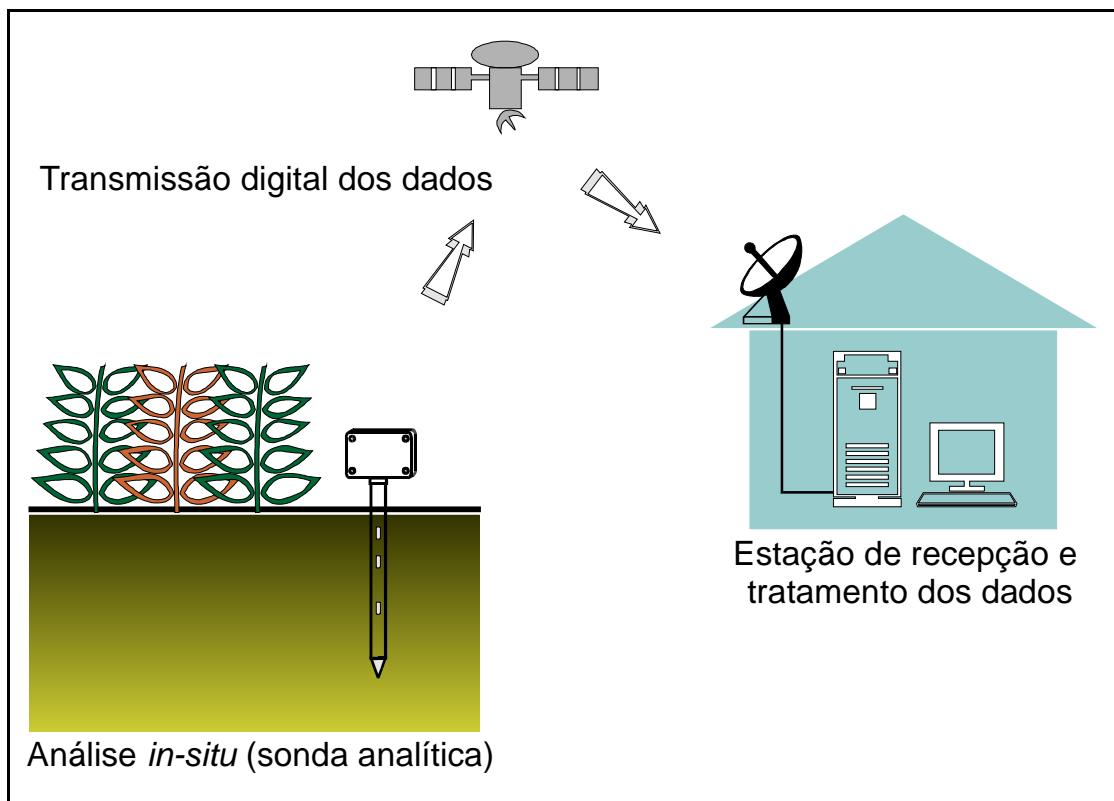


FIGURA 3.5. Monitoramento em tempo real de parâmetros físico-químicos do solo.

A grande vantagem dos sensores está na sua robustez, seu tamanho reduzido, versatilidade e baixo custo de produção. São dispositivos de funcionamento simples se comparados a outras técnicas analíticas como a cromatografia ou a espectroscopia, dando possibilidade de criação de sistemas de análise *in situ* (MADOU e MORRISON, 1989).

3.4 – Sensores Químicos

O controle em tempo real está se tornando uma parte integrante dos modernos sistemas para uma produção agropecuária de alta qualidade e uma alternativa aos métodos clássicos de análise. Os sistemas de sensoriamento e controle podem reduzir a necessidade do trabalho em laboratório e permitir uma avaliação dos estados físico-químicos variantes do solo.

Além disso, a preocupação com o ambiente e a saúde e todos os aspectos envolvidos na boa manutenção, têm levado a um desejo crescente da humanidade a monitorar o ambiente em tempo real. Devido a esse desejo crescente têm-se observado esforços em pesquisa no desenvolvimento de sensores para uma variedade de aplicações. O resultado final deste tipo de pesquisa proporcionará no futuro a existência de dispositivos inteligentes de medida para o monitoramento de quase tudo aquilo que se deseja. As possibilidades são limitadas apenas pela química, física e eletrônica de tais dispositivos e o estado da arte em um determinado momento histórico (CATRALL, 1997).

Os sensores podem ser categorizados em dois grupos: a) os sensores físicos, que são sensíveis a respostas físicas como temperatura, pressão, campo magnético etc. e não possuem interface química; e b) sensores químicos, os quais se baseiam em reações químicas particulares para sua resposta. Um sensor químico é um dispositivo que transforma a informação química, variação da concentração de um componente específico da amostra para análise da composição total, em um sinal analiticamente útil. O sensor químico pode ser dividido em três partes (Figura 3.6). A primeira corresponde ao elemento de reconhecimento, encarregado de gerar um sinal primário como consequência da interação seletiva com o analito presente na amostra. A natureza do sinal pode apresentar as mais diversas formas (elétrica, mássica, ótica, térmica etc.). Os materiais receptores podem ser divididos em dois blocos: os materiais sintéticos (reagentes seletivos, ionóforos e macromoléculas) e os materiais biológicos (imunoglobulinas, enzimas, tecidos vegetais e animais e material genético). A segunda parte corresponde ao transdutor, que se encarrega de transformar o sinal primário em um sinal físico mensurável, geralmente de domínio elétrico. Finalmente, o sinal elétrico obtido é amplificado e processado. Assim como estabelece a IUPAC (HULANICKI et al., 1991), os sensores químicos podem ser classificados de acordo com o princípio de funcionamento do transdutor em óticos, eletroquímicos, piezelétricos, magnéticos, termométricos e radiométricos.

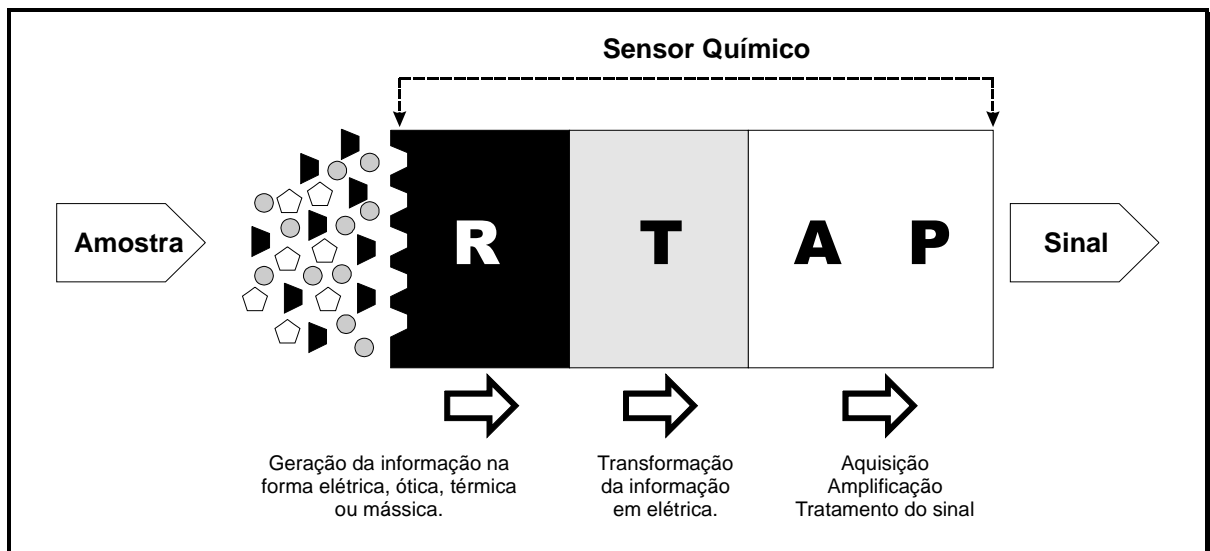


FIGURA 3.6. Funcionamento de um sensor químico: R: elemento de reconhecimento; T: transdutor elétrico; A: aquisição e amplificação do sinal; P: processamento do sinal.

Os sensores eletroquímicos têm sido usados como um todo ou como parte integrante de vários sensores químicos. O modo operacional desse tipo de sensor é baseado nos princípios tradicionais da eletroanalítica. São em sua essência células eletroquímicas consistindo de dois ou mais eletrodos em contato com um eletrólito líquido ou sólido e podem ser classificados de acordo com o modo de operação em sensores potenciométricos e sensores voltamétricos. Quando uma célula eletroquímica é utilizada como sensor, a escolha do parâmetro de medida é baseada na sensibilidade, seletividade e exatidão proporcionadas com relação às espécies a serem determinadas. Sendo assim, o conhecimento dos princípios e limitações de cada modo operacional é essencial no planejamento e desenvolvimento de um sensor. Os sensores voltamétricos se caracterizam por possuir maior sensibilidade e exatidão. Em contrapartida, os sensores potenciométricos necessitam de uma logística (design de construção e instrumentação eletrônica) mais simples para a operação. Além disso, apresentam maiores faixas lineares de trabalho e excelente seletividade. Isso se reflete na escolha do sensor potenciométrico como preferido em pesquisa e desenvolvimento nessa área, observada pelo grande número de trabalhos na literatura (BÜHLMANN et al., 1998).

O grupo mais representativo de sensores potenciométricos é o dos eletrodos seletivos a íons (ISE). A superfície deste eletrodo geralmente incorpora uma membrana funcional (elemento de reconhecimento) com propriedades íon-seletivas, íon-permeáveis ou trocadoras iônicas. A utilização desta membrana minimiza a interferência de outros íons e proporciona seletividade para o íon desejado. A aplicação deste tipo de sensor geralmente envolve uma reação da semicélula de interesse e uma reação fornecendo um potencial de referência (eletrodo de referência) para completar a medida potenciométrica.

3.4.1 – Eletrodos Íon-Seletivos (ISE)

Os eletrodos seletivos a íons são sensores químicos baseados em um princípio de transdução potenciométrica. O elemento de reconhecimento mantém um equilíbrio dinâmico e reversível com o íon de interesse na superfície da membrana. Os íons difundem na direção de menor potencial químico produzindo uma separação de cargas na interface membrana-solução, a qual é denominada de potencial de membrana (PARRA, 2002). Existe uma grande variedade de eletrodos íon-seletivos que podem ser classificados de acordo com as características do elemento sensor (Tabela 3.1).

3.4.1.1 – Eletrodos Íon-Seletivos de Membranas Poliméricas

Os eletrodos íons seletivos baseados em membrana polimérica são os sensores químicos mais versáteis e têm aplicações descritas na literatura para mais de 60 analitos diferentes (BÜHLMANN et al., 1998). Uma membrana polimérica consta, essencialmente de três componentes: o material eletroativo ou ionóforo, o solvente mediador ou plastificante e uma matriz polimérica. O material eletroativo deve ser suficientemente estável e ter uma elevada solubilidade no solvente mediador, mas uma baixa solubilidade em água. Os requerimentos para um bom solvente mediador incluem: baixa solubilidade em água, baixa pressão de vapor, elevada viscosidade e estabilidade com relação à luz e ser favorável para a seletividade do íon desejado (CÁCERES et al., 2001). Finalmente, o material polimérico deve ser solúvel em um solvente volátil, a fim de obter, depois da evaporação deste, uma membrana homogênea. Além disso, deve ser altamente

hidrofóbico e não pode conter grupos eletroativos. Depois da formação da membrana, a temperatura de transição vítrea do polímero deve ser maior que a temperatura ambiente. Atualmente, o polímero mais utilizado é o cloreto de polivinila (PVC). Para se obter uma membrana de PVC com boas características, a proporção ótima de plastificante e PVC deve ser de 70:30 em peso, aproximadamente (CÁCERES, 2001).

As membranas poliméricas possuem resistência elétrica razoavelmente alta (na ordem de $1 \text{ M}\Omega$), porém conduzem carga em seu funcionamento e, presumivelmente, o transportador de carga é o ionóforo movendo-se dentro dos canais líquidos da membrana.

TABELA 3.1. Classificação dos eletrodos íon-seletivos

Classe	Tipo	Material	Exemplos
Membrana cristalina	Vidro	Vidro	H^+ , Na^+ , K^+
	Cristal	LaF_3 ; AgCl	F^- , Cl^-
	Sal de baixa solubilidade	$\text{AgX}/\text{Ag}_2\text{S}$, $\text{XS}/\text{Ag}_2\text{S}$	Cl^- , I^- , Cu^{2+} , Pb^{2+}
Membrana plástica ISFET		Trocador iônico	Ca^{2+} , NO_3^-
		Carregador neutro	Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , NH_4^+
		Polifenildiamina	NO_3^-
		Carregador neutro	K^+
Quimicamente modificados	Carbono vítreo		H^+
	Grafite		H^+
Sensores para gases	Potenciométrico		NH_3 , H_2S

Por que a aplicação de eletrodos seletivos a íons em análise de solos?

Sabe-se que as partículas do solo carregam consigo quantidades variáveis de cargas positivas ou negativas em sua superfície podendo absorver cátions ou ânions. Sob condições naturais, alguns desses íons podem se solubilizar na solução aquosa do solo. Estes íons, juntamente com íons advindos da dissolução da fase sólida e da ação de fertilizantes, são as fontes de nutrientes para as plantas. Assim, o comportamento dos íons no solo é foco de estudos em química e fertilidade

do solo. Os eletrodos seletivos a íons preenchem satisfatoriamente essa demanda; além disso, pode-se dizer que não há nenhum outro meio pelo qual tais estudos são realizados de maneira tão eficaz. Não é de se estranhar que em ciência do solo os métodos potenciométricos têm sido extensivamente aplicados (YU, 1985).

3.4.1.2 – Eletrodo Metálico de Cobalto

Este tipo de eletrodo tem mostrado uma resposta seletiva a fosfatos frente a outros ânions como sulfato, nitrato e cloreto. Recentemente, foi proposto o uso de sensores de cobalto como detectores potenciométricos integrados a sistemas de análise em fluxo (CHEN et al., 1997). O mecanismo de resposta desses sensores está em estudo e existem discrepâncias entre diferentes autores. XIAO e colaboradores (1995) postulam que o mecanismo envolve a formação de uma camada de óxido não estequiométrico de CoO sobre a superfície do metal com imperfeições que lhe conferem caráter de semicondutor tipo p. As cavidades geradas durante a formação desse óxido não estequiométrico poderiam acomodar a estrutura da espécie dihidrogenofosfato (XIAO et al., 1995).

Contrariamente, MERUVA e MEYERHOFF (1996 e 1997) afirmam que o eletrodo é seletivo às três espécies de fosfato: H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} , devido à formação de uma camada de fosfato de cobalto, $\text{Co}_3(\text{PO}_4)_2$, sobre a superfície do eletrodo. O potencial medido é o resultado de um potencial misto, originado pela oxidação lenta do cobalto e simultânea redução do O_2 e Co^{2+} na superfície. A presença de fosfatos acelera a oxidação do metal e forma uma camada de fosfato de cobalto responsável pela resposta seletiva (MERUVA e MEYERHOFF, 1996; MERUVA e MEYERHOFF, 1997). Finalmente, DE MARCO e colaboradores (1998) postulam a formação de um sal de fosfato $\text{K}_2(\text{Co}(\text{HPO}_4)_2)$: a espécie hidrogenofosfato dissolve a camada de óxido de cobalto, formada sobre a superfície do sensor, facilitando o processo de corrosão que controla a resposta do eletrodo metálico em meio aquoso (DE MARCO et al., 1998). Finalmente, ENGBLOM (1999) introduz a teoria do potencial misto para explicar o mecanismo de resposta do sensor, e aplica à determinação de fosfato inorgânico em extratos de solos. Segundo os mecanismos propostos, o eletrodo responde a espécies de fosfato e à pressão parcial do oxigênio dissolvido, portanto caberia trabalhar com aeração constante e mantendo uma velocidade de agitação uniforme para obter uma boa

reprodutibilidade. A resposta também depende do pH da solução, da força iônica e do tampão empregado. Recentemente, observou-se que o eletrodo também era sensível a moléculas orgânicas que possuem o grupamento ortofosfato ou suas variedades em sua estrutura interna (LEMOS et al., 2003).

Os eletrodos de cobalto apresentam melhores resultados quando aplicados em sistema de análise em fluxo. Esses sistemas são baseados na injeção de uma amostra líquida introduzida em movimento num fluxo transportador líquido. A amostra injetada é transportada através do detector que registra continuamente a absorbância, o potencial do eletrodo ou outro parâmetro físico que está continuamente mudando, conforme a passagem da amostra através da célula de fluxo. Os bons resultados do eletrodo de cobalto aplicados aos sistemas de análise em fluxo se devem ao fato do mesmo ser um eletrodo influenciado pela cinética da reação, ou seja, o potencial é diretamente influenciado pela velocidade de transporte do analito em direção à superfície do eletrodo, a qual é maior em sistema de fluxo.

3.5 – Análise em Fluxo

A crescente demanda por informações analíticas por parte da sociedade com a finalidade de compreender os processos que acontecem ao seu redor, tem impulsionado o nascimento de novas áreas de investigação dentro da Química Analítica. Uma área de investigação que tem experimentado grande impulso é a do desenvolvimento de métodos automatizados que, mediante os avanços da microeletrônica e microinformática permite processar um grande volume de amostras.

A implementação de métodos automatizados de análise está ligada à necessidade de substituir uma operação manual ou medida estática efetuada pelo analista por um procedimento análogo realizado sem a participação humana com o objetivo de melhorar basicamente a sua confiabilidade, rapidez e custo. Entretanto, a complexidade dos métodos analíticos faz com que nem todas as etapas sejam fáceis de automatizar. Esta dificuldade se forma a partir da própria complexidade da matriz da amostra onde encontra o analito (CÁCERES, 2001).

Em 1956, SKEGGS propôs a realização seqüencial de diferentes etapas analíticas em um sistema automatizado onde a amostra se move através dos

diferentes tratamentos necessários e prévios à medida. Esta idéia deu início às técnicas de fluxo contínuo. Em 1975, RUZICKA e HANSEN propuseram um novo conceito de análise em fluxo, ao qual denominaram análise por injeção em fluxo contínuo (FIA, *Flow Injection Analysis*). O princípio do processo é muito simples e baseia-se na inserção de uma alíquota da solução da amostra no percurso analítico, a qual sofre dispersão ao ser conduzida através do mesmo (originando a denominada zona de amostra), por uma solução transportadora até o detector. Durante o transporte, a amostra pode receber reagentes e sofrer reações químicas com a finalidade de gerar um produto adequado para a quantificação.

A detecção é efetuada com a amostra em movimento em relação ao detector. Devido à dispersão da amostra e a conseqüente formação de gradientes de concentração, o sinal gerado pelo detector é um transiente em função do tempo e não apresenta um estado estacionário para a leitura. O sinal registrado tem a forma de um pico, onde a altura, a largura ou a área do mesmo pode ser relacionada com a concentração do analito (RUZICKA e HANSEN, 1988).

O parâmetro físico mais importante num sistema de análise por injeção em fluxo é a dispersão, sendo um princípio básico do sistema FIA a denominada “dispersão controlada”. Este processo de dispersão é dependente das características físico-químicas das soluções, bem como das dimensões dos componentes do sistema (volume de amostra, material, diâmetro e comprimento dos tubos, vazões), que constituem o módulo de análise. Usualmente, as medidas são feitas com esses parâmetros mantidos constantes, permitindo a obtenção de resultados altamente reprodutíveis.

Um sistema de análise por injeção em fluxo é planejado para possibilitar a execução de operações analíticas necessárias para a geração do sinal analítico, sendo o fator mais importante o conhecimento dos processos químicos e físicos que ocorrem durante o movimento dos fluidos nestes sistemas. Consiste basicamente de uma unidade propulsora de soluções, uma unidade de introdução da amostra e uma unidade de medida (detector). O dispositivo geralmente empregado para propulsão dos fluidos é a bomba peristáltica, que permite a propulsão à vazão constante. A seleção e inserção reprodutível de volumes bem definidos de amostras e soluções de referência ou reagentes pode ser feita empregando um injetor proporcional ou válvulas rotatórias. A detecção é feita através da associação do sistema de análise por injeção em fluxo com os detectores comumente empregados em química

analítica tais como os espectrofotométricos no UV-VIS, de absorção ou emissão atômica, potenciométricos, condutimétricos e amperométricos.

A análise em fluxo constitui-se então numa importante evolução metodológica em Química Analítica e que se caracteriza por um fundamento simples, uma instrumentação barata, manuseio simples e cômodo e uma surpreendente capacidade de obter com rapidez, exatidão e precisão os resultados desejados.

Parte Experimental

4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Sistema de Análise em Fluxo para a Determinação de Nitrogênio em Amostras Agronômicas

4.1.1 – Equipamentos e acessórios

Para o desenvolvimento do procedimento foi necessária a utilização dos seguintes materiais.

- Papel de filtro qualitativo;
- Bomba peristáltica com 8 canais;
- Tubos de Tygon[®] para bombeamento das soluções;
- Injetor/comutador de acrílico do tipo 1:3;
- Espectrofotômetro FEMTO, modelo 432, com célula de fluxo com caminho ótico de 1 cm;
- Unidade de difusão gasosa (ALLTECH, modelo 370) com 25,4 cm de comprimento por 11,4 cm de altura e 18,5 cm de largura;
- Banho termostaticado (FANEM, modelo 100);
- Tubos de polietileno (0,8 mm.d. i.);
- Coluna redutora de zinco: confeccionada a partir de um tubo Tygon[®] (2 mm d. i.) preenchido com zinco metálico (20 mesh) e espuma de poliuretano nas extremidades;

4.1.2 – Reagentes

Todas as soluções foram preparadas com reagentes químicos de alto grau analítico, exceto o hipoclorito (produto comercial). Água deionizada foi empregada no preparo das soluções e padrões.

- Hidróxido de sódio 1,5 mol L⁻¹ (R₁);
- Hidróxido de sódio 0,75 mol L⁻¹ (Rec);

- Solução de ácido salicílico/nitroprussiato, preparada em meio NaOH 0,35 mol L⁻¹: citrato de sódio 5 % (m/v) (para se evitar precipitações de hidróxidos de metais), nitroprussiato 0,50 % (m/v) (como agente estabilizante, oxidante e que catalisa a velocidade de formação do cromóforo) e 0,2 mol L⁻¹ de ácido salicílico (R₂);
- Solução comercial de hipoclorito de sódio, contendo 2,0 - 2,5 % de cloro ativo (R₃);
- Sulfato de cobre (CuSO₄) 0,1 % (m/v), empregada como solução ativadora da coluna redutora;
- Solução analítica estoque de 1000 mg L⁻¹ de N: 2,857 g NH₄NO₃ dissolvidos em 1000 mL de água. Solução utilizada na confecção dos padrões utilizados na determinação de nitrogênio em amostras de tecido vegetal;
- Solução analítica estoque de 1000 mg L⁻¹ de N: 2,857 g NH₄NO₃ dissolvidos em 1000 mL de solução KCl 1 mol L⁻¹. Solução utilizada na confecção dos padrões utilizados na determinação de nitrogênio em extratos de solo.

Observações:

- As soluções analíticas de trabalho foram preparadas a partir de diluições apropriadas da solução estoque.
- O composto fenólico normalmente utilizado é o fenol, o qual é altamente tóxico e volátil, podendo ser absorvido na forma de o-clorofenol no ar ou através da pele. Em substituição, utilizou-se o salicilato por este não ser tóxico, apesar de possuir reatividade menor que o fenol.

4.1.3 – Procedimento

4.1.3.1 – Determinação de N-NH₄⁺

O diagrama de fluxos utilizado está descrito na Figura 4.1. A amostra (A) foi obtida a partir da extração de 10 g do solo com 25 mL solução KCl 1 mol L⁻¹ por 30 minutos. Após a decantação da amostra por 1 hora, a mesma foi filtrada e o filtrado foi analisado no sistema de análise em fluxo desenvolvido. A amostra é

aspirada para preencher a alça de amostragem ($L = 100 \text{ cm}$, $500 \mu\text{L}$), que define o volume exato a ser introduzido no sistema, sendo o excesso descartado (D). A porção selecionada é introduzida no fluxo transportador (T, água a $1,7 \text{ mL min}^{-1}$), recebe uma solução de base forte (R_1 , NaOH $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ a $4,0 \text{ mL min}^{-1}$) atravessa a bobina B_1 (30 cm) para uma perfeita homogeneização e conversão do NH_4^+ em $\text{NH}_{3(g)}$ pelo aumento do pH.

O fluxo contendo a $\text{NH}_{3(g)}$ é transportado através de uma câmara de difusão gasosa (C) contendo uma membrana semi-permeável seletiva a gases através da qual a $\text{NH}_{3(g)}$ é difundida e recebida em um outro fluxo contendo solução básica (Rec, NaOH $0,75 \text{ mol L}^{-1}$ a $1,7 \text{ mL min}^{-1}$) existente na parte superior da câmara; a $\text{NH}_{3(g)}$ difundida recebe o reagente ácido salicílico/nitroprussiato (R_2 , $0,6 \text{ mL min}^{-1}$), hipoclorito (R_3 , $0,4 \text{ mL min}^{-1}$) e, após passar pela bobina de reação (B_2 , 300 cm , 37°C), a amostra processada atinge a célula de fluxo do espectrofotômetro ($\lambda = 660 \text{ nm}$), apresentando um sinal proporcional ao conteúdo total de nitrogênio na amostra. Os teores de NH_4^+ nas amostras são obtidos a partir da relação entre valor de absorbância x concentração.

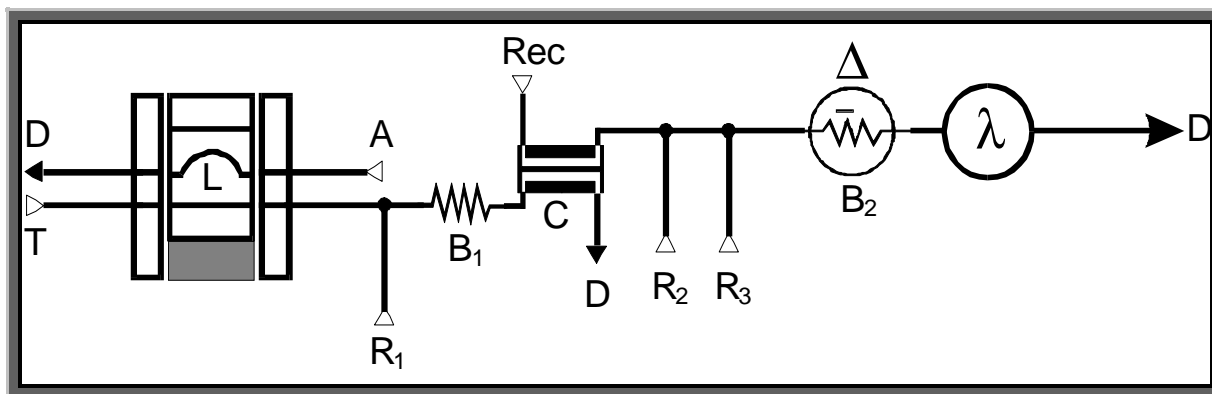


FIGURA 4.1. Diagrama de fluxos para a determinação de N-NH_4^+ . A, amostra, T, fluxo transportador, B_1 e B_2 , bobinas de reação, C, célula de difusão gasosa, Rec, fluxo receptor, R_1 , R_2 e R_3 , reagentes, λ , detector, Δ , banho termostatizado, D, descarte.

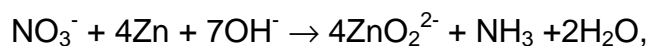
A curva analítica é preparada a partir de diluições de uma solução estoque de 1000 mg N L^{-1} compreendendo $0,5 - 40 \text{ mg L}^{-1}$ sobre uma amostra de solo escolhida aleatoriamente em um lote de amostras semelhantes. Esse procedimento é realizado para se minimizar o efeito que a matriz exerce sobre a

análise. O teor de matéria orgânica dissolvida das amostras influencia na eficiência de redução do nitrato pela coluna de zinco metálico. Com a adoção da compatibilização de matriz, essa influência é minimizada e obtêm-se resultados analíticos, como se pode ver nas discussões dos resultados.

4.1.3.2 – Determinação de $N\text{-NO}_3^-$ e $N\text{-NO}_2^-$

A determinação de nitrogênio total é realizada pela inserção de uma coluna contendo uma substância redutora, capaz de reduzir todo $N\text{-NO}_3^-$ e $N\text{-NO}_2^-$ a $\text{NH}_{3(g)}$. Nesta etapa do trabalho foi empregada uma coluna de zinco metálico. Para a determinação de $N\text{-NO}_3^-$ (na forma de $N\text{-NO}_3^- + N\text{-NH}_4^+$) a contribuição do $N\text{-NO}_2^-$ deve ser eliminada. Isso foi feito com a adição de 1,0 mL de uma solução 1% de ácido sulfanílico (v/v) em 30% de ácido acético (v / v) (FARIA e PASQUINI, 1991); o valor de $N\text{-NO}_3^-$ é obtido pela subtração do $N\text{-NH}_4^+$ obtido da forma demonstrada no item anterior. Já para a determinação de $N\text{-NO}_2^-$, obtém-se o N total contido na amostra e subtrai-se do valor determinado $N\text{-NO}_3^- + N\text{-NH}_4^+$. Na Tabela 4.1 tem-se um quadro resumo das determinações e modos de cálculo.

O diagrama de fluxos utilizado está descrito na Figura 4.2. A amostra (A), obtida a partir da decomposição com um ácido forte (para o caso de tecidos vegetais) ou extração do solo com solução KCl 1 mol L⁻¹ é aspirada para preencher a alça de amostragem (L = 100 cm, 500 µL). A porção selecionada é introduzida no fluxo transportador (T, água a 1,7 mL min⁻¹), recebe uma solução básica (R₁, NaOH 1,5 mol L⁻¹ a 4,0 mL min⁻¹), atravessa a coluna redutora onde o nitrato é reduzido de acordo com a reação:



passando pela bobina B₁ (30 cm), para uma perfeita homogeneização. Desta etapa em diante, a $\text{NH}_{3(g)}$ é determinada como descrito no item anterior. Os teores de N total nas amostras são obtidos a partir da relação entre valor de absorvância x concentração.

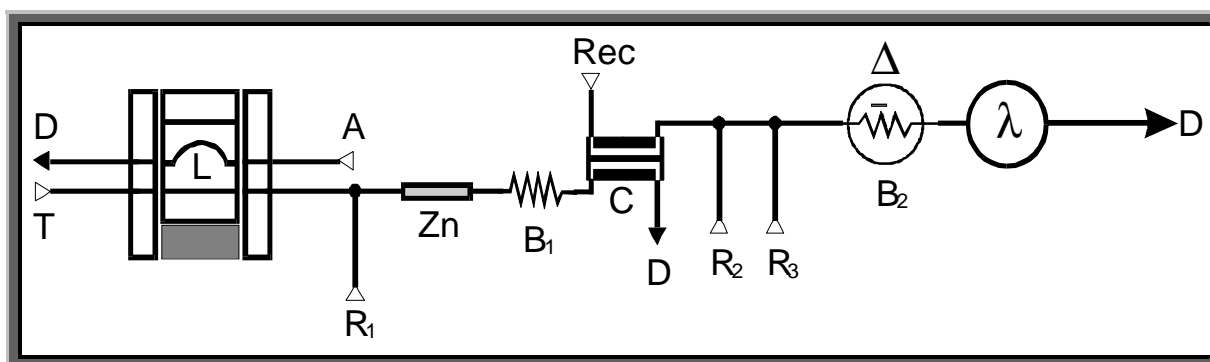


FIGURA 4.2. Diagrama de fluxos para a determinação de N total, N-NO_3^- e N-NO_2^- . A, amostra, T, fluxo transportador, Zn, coluna redutora de zinco metálico, B_1 e B_2 , bobinas de reação, C, célula de difusão gasosa, Rec, fluxo receptor, R_1 , R_2 , R_3 , reagentes, λ , detector, Δ , banho termostatizado, D, descarte.

TABELA 4.1. Quadro resumo das determinações de nitrogênio e modos de cálculo.

Método empregado	Forma Determinada	Cálculo
Com coluna de redução de Zn	N total	–
Sem coluna de redução de Zn	N-NH_4^+	–
Com coluna de redução de Zn e adição de ácido sulfanílico	N-NO_3^- $(\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-)$	$(\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-) - \text{N-NH}_4^+$
Com coluna de redução de Zn (indiretamente)	N-NO_2^-	$\text{N Total} - (\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-)$

4.1.3.3 – Amostras

Foram realizados testes com amostras de tecido vegetal provenientes do Programa Interlaboratorial de Análise de Tecido Vegetal (PCI), o qual conta com a participação de 84 laboratórios (VITTI et al., 2002). Esses testes tiveram o objetivo de verificar o desempenho do sistema de análise em fluxo na determinação de N-NH_4^+ em amostras de plantas através da comparação dos resultados obtidos com os valores obtidos pelo programa.

Após essa etapa, passou-se à utilização do sistema na determinação de nitrato e nitrito, com a realização de ensaios de adição e recuperação em padrões químicos (soluções com concentração conhecida de N-NO_3^- e N-NH_4^+) e extratos de solo.

4.2 – Sistema de Análise em Fluxo Potenciométrico para a Determinação Simultânea de Fitato e Fosfato

4.2.1 – Construção do eletrodo de cobalto e condicionamento

A construção do eletrodo de cobalto foi realizada utilizando metodologia já estabelecida, a qual foi proposta pelo Grupo de Sensores e Biossensores e está ilustrada na Figura 4.3. Esta técnica consiste dos seguintes passos: um tubo cilíndrico de metacrilato com 8 mm de comprimento e 5 mm de diâmetro interno é construído de forma que um disco de cobalto metálico de 99,99% de pureza é perfeitamente inserido na área de abertura (Figura 4.3a). Em seguida, um conector em forma de pinça é introduzido no tubo (Figura 4.3b) e é selada ao disco de cobalto com a ajuda de uma resina de prata a base de epóxi (EpoTek H77, Epoxy Technology), a qual garante a conexão elétrica (Figura 4.3c). Então, ambas as faces do disco de cobalto são isoladas do meio exterior com a aplicação de resina epóxi (Figura 4.3d), a qual é curada a 40°C durante 24h. Finalmente, o centro do sensor é perfurado longitudinalmente com uma broca de 1 mm de diâmetro (Figura 4.3e). Um suporte em acrílico foi utilizado para a fixação do eletrodo de cobalto no sistema em fluxo. A Figura 4.4 mostra um esquema de montagem desse suporte e a Figura 4.5 apresenta uma foto do sensor e do suporte de acrílico utilizados no sistema em fluxo.

Os sensores foram condicionados em soluções de fosfato previamente à análise. Para a determinação de fitato, o qual foi denominado de fósforo orgânico ou P_{org} , o eletrodo de cobalto foi imerso numa solução de ácido fítico $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ por 24h. Para a determinação de fosfato, o qual foi denominado de fósforo inorgânico ou P_i , uma solução $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ de NaH_2PO_4 foi utilizada.

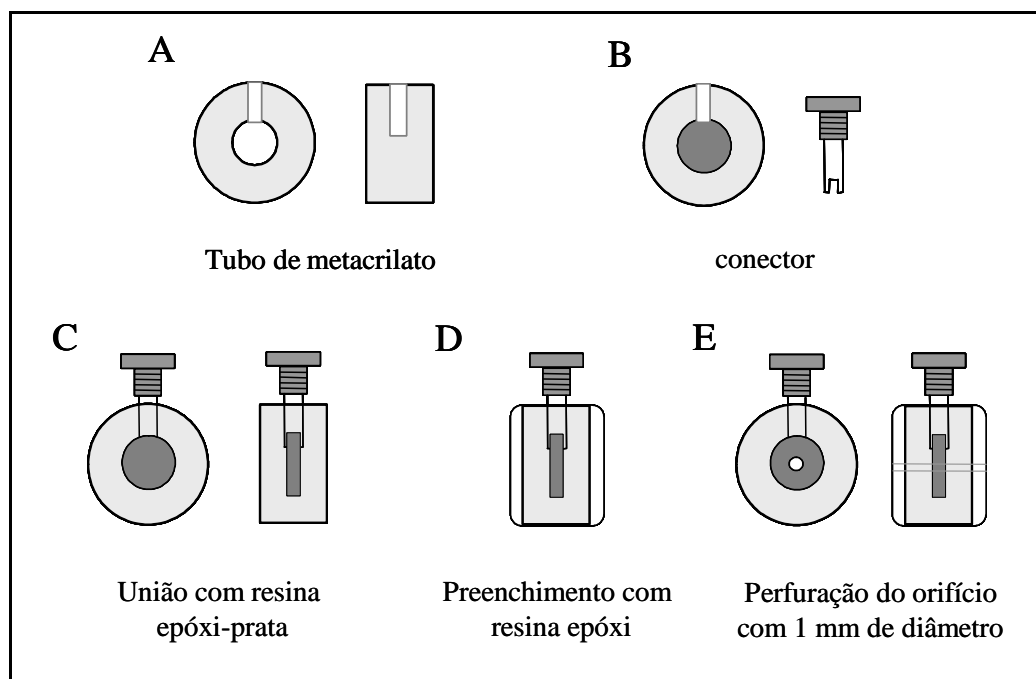


FIGURA 4.3. Construção do eletrodo de cobalto.

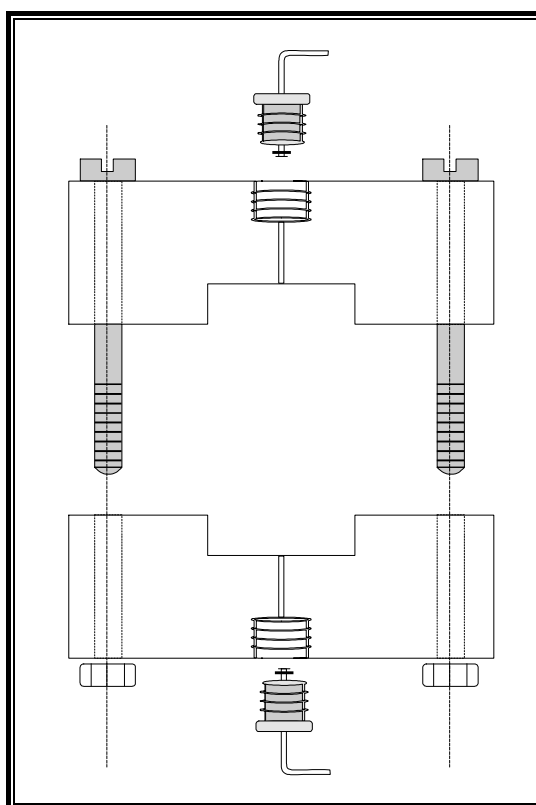


FIGURA 4.4. Desenho do suporte confeccionado em acrílico para adaptação do eletrodo de cobalto ao sistema de análise em fluxo.

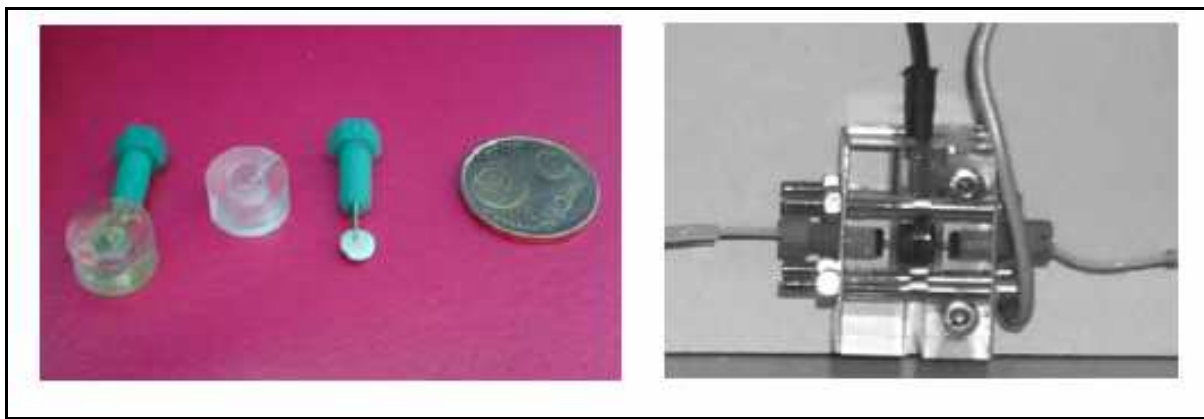


FIGURA 4.5. Eletrodo metálico de cobalto de configuração tubular (esquerda) e suporte de acrílico (direita).

4.2.2 – Instrumentação

A resposta potenciométrica do eletrodo de cobalto foi medida em um sistema de análise em fluxo demonstrado no esquema da Figura 4.6. Este sistema é constituído de uma bomba peristáltica (Ismatec, 78001-12, Suíça), um potenciômetro (Metler-Toledo, 355 Ion Analyzer, Inglaterra), um registrador potenciométrico XY (Kipp & Zonen, modelo BD112, Holanda) e um eletrodo de referência Ag/AgCl em solução saturada de KCl e de dupla junção líquida (Orion, 90-02-00, USA). Uma solução 10% de KNO_3 foi utilizada como solução de preenchimento externo do eletrodo de referência. Um tubo de aço inoxidável conectado a um aterramento elétrico foi introduzido no fluxo principal do sistema em fluxo com o objetivo de minimizar possíveis correntes espúrias oriundas da rede de distribuição elétrica e efeitos estáticos harmônicos gerados pela fricção dos tubos de propulsão com os roletes da bomba peristáltica. A Figura 4.7 mostra uma foto do sistema em fluxo montado para um eletrodo de cobalto.

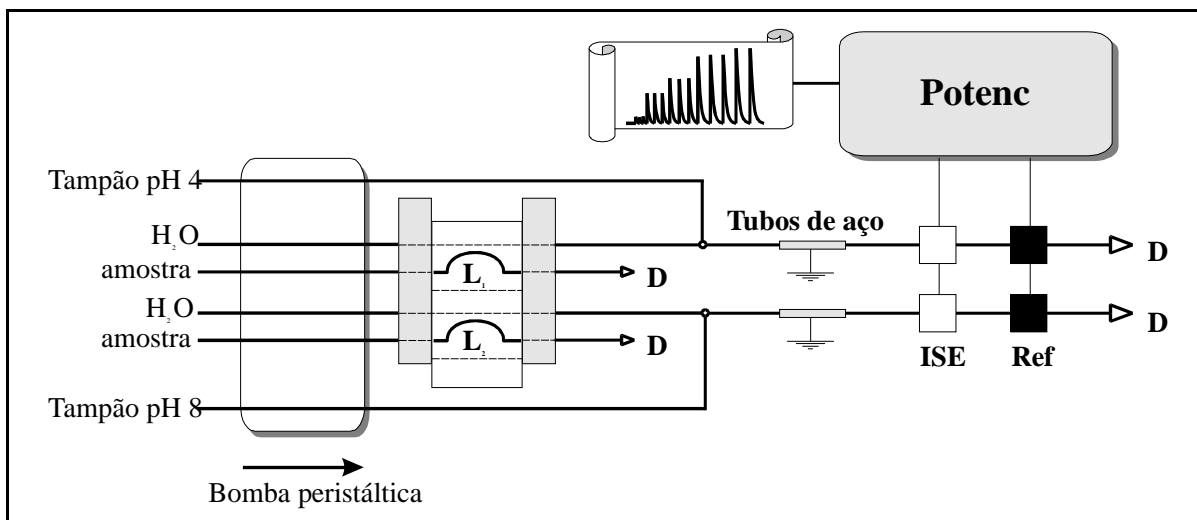


FIGURA 4.6. Esquema do sistema de análise em fluxo desenvolvido. Potenc: potenciômetro; ISE: eletrodos de cobalto; Ref.: eletrodos de referência; tubos de aço: aterramento; L_1 : alça de amostragem para a determinação de “ P_i ” (500 μL); L_2 : alça de amostragem para a determinação de “ P_{org} ” (75 μL); Tampão pH 4: Biftalato de potássio (2,8 mL mim^{-1}); Tampão pH 8: Tris-HCl (1,4 mL mim^{-1}); D: descarte.

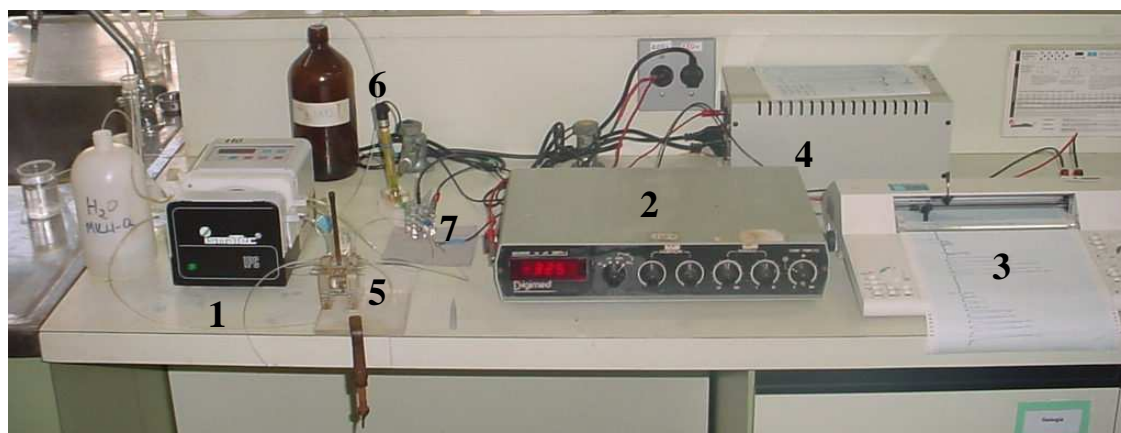


FIGURA 4.7. Foto do sistema em fluxo. 1: bomba peristáltica; 2: potenciômetro; 3: registrador; 4: estabilizador; 5: injetor-comutador; 6: eletrodo de referência; 7: suporte com o eletrodo de cobalto.

4.2.3 – Preparo das amostras e determinações dos teores de P

A metodologia de avaliação do teor de fósforo orgânico e inorgânico envolve uma etapa prévia de tratamento de amostra, seguida de um procedimento

de extração. Para a validação do sistema em fluxo proposto, amostras de milho (*Zea mays*, L.), farelo de soja (*Glycine max*, L.) e ração para lactação animal foram utilizadas. Primeiramente, a amostra foi moída em moinho de facas (MR 340 Microtec, Brasil) e peneirada em peneira de mesh 20. As amostras foram secas previamente a 60°C durante 48h em forno com ventilação forçada. Para a etapa de extração do fósforo, uma porção de 1,0 g de cada amostra foi pesada e transferida para um frasco de vidro. Em seguida 25 mL de água bidestilada e purificada em sistema Milli-Q® a 100°C foram adicionados a cada frasco. As suspensões resultantes foram agitadas por 30 minutos e centrifugadas em seguida a 2000 rpm por 10 minutos. Então, a determinação dos teores de fósforo orgânico e inorgânico foi realizada.

Na etapa de determinação potenciométrica, as amostras foram inseridas no fluxo transportador de água e então misturadas aos seus respectivos tampões através de uma confluência em T. Os fluxos resultantes, os quais definem o sinal da linha-base, foram simultaneamente registrados. Para a determinação de P_i foi utilizada como solução-tampão uma solução de biftalato de potássio $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ a pH 4, enquanto para a determinação de P_{org} , foi escolhida uma solução $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de Tris-HCl a pH 8. Para a obtenção das curvas analíticas, dihidrogenofosfato de sódio foi utilizado como padrão de P_i , enquanto ácido fítico foi utilizado para descrever o conteúdo de P_{org} . Ambas as curvas analíticas foram preparadas nas concentrações de 10 a 1000 mg L^{-1} de P.

Com o objetivo de otimizar o sistema de análise em fluxo, as alturas de pico de duas soluções-padrão (50 e 500 mg L^{-1} de P_i ou P_{org}) foram avaliadas em triplicata, correspondendo a uma concentração baixa e outra média, respectivamente, dentro da região linear de trabalho. Como critério de avaliação para a seleção das melhores condições experimentais do sistema de análise em fluxo, foi utilizada a melhor relação entre a altura de pico e repetibilidade das medidas. Para a comparação dos resultados obtidos foi empregado um procedimento espectrofotométrico baseado na hidrólise enzimática do fitato. O P_i foi determinado diretamente através do método do azul de molibdênio. O fitato foi hidrolisado pela enzima fitase imobilizada e empacotada em um reator de fluxo, sendo o P_i hidrolisado resultante determinado também pelo método do azul de molibdênio a 650 nm (VIEIRA e NOGUEIRA, 2004).

4.3 – Análise de Solos “In Situ”: desenvolvimento e aplicação de um protótipo empregando sensores eletroquímicos no estudo da variabilidade de nutrientes no solo

4.3.1 – Equipamentos e acessórios

4.3.1.1 – Sensores utilizados

Os sensores empregados foram desenvolvidos no Grupo de Sensores e Biossensores (GSB) da Universidade Autônoma de Barcelona (UAB). Caracterizam-se por apresentar um contato elétrico interno sólido, que mostra com principal vantagem em relação aos eletrodos de contato interno líquido, a versatilidade quanto à sua construção, ou seja, permitem o desenho de diferentes configurações, o que se faz experimentalmente útil para a miniaturização dos dispositivos. A principal desvantagem é o potencial de interface interno que não é constante. Assume-se que este potencial interfacial entre a membrana seletiva e o compósito interno de grafite-epóxi é devido ao par O_2/H_2O , facilitado pela permeabilidade do PVC à água e ao oxigênio.

Foram utilizados dois tipos de sensores potenciométricos com configurações diferentes. Os primeiros foram confeccionados com a tecnologia “screen-printing” ou serigrafia, comumente utilizada na confecção de placas de circuito impresso. A Figura 4.8 demonstra o desenho utilizado na confecção deste tipo de sensor. Este é formado por uma placa de fibra de vidro na qual estão designadas áreas específicas para o eletrodo de trabalho (o qual comporta uma fina camada de transdutor grafite-epóxi), onde deve ser depositada a membrana seletiva, e para o eletrodo de referência, o qual pode ser a própria trilha de cobre depositada na confecção do sensor ou um filme fino de prata, obtido da deposição de uma pasta de prata-epóxi. Finalizando a descrição do sensor, existem trilhas de cobre provenientes dos eletrodos e terminadas em pequenos contatos, os quais são conectados à instrumentação eletrônica utilizada na sonda. Todo o sensor é coberto por uma camada de polímero isolante e protetor (Ebecryl 600, UCB), deixando expostas somente as áreas destinadas aos eletrodos de trabalho e referência e aos contatos elétricos.

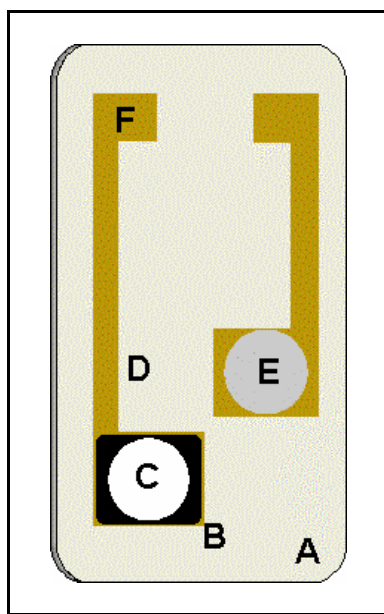


FIGURA 4.8. Desenho esquemático do sensor “screen-printing” utilizado no estudo. (A) placa suporte do sensor – placa de circuito impresso (fibra de vidro); (B) camada de transdutor grafite-epóxi; (C) membrana íon-seletiva de PVC; (D) eletrodo de trabalho; (E) eletrodo de referência (Cu ou Ag); (F) trilha metálica de Cu e contato elétrico.

Na segunda etapa do trabalho, os sensores serigráficos foram substituídos por sensores de configuração convencional. A substituição dos sensores serigráficos anteriormente utilizados foi uma necessidade em vista dos mesmos apresentarem reprodutibilidade muito ruim e resistência à abrasão do solo muito baixa, perdendo seu material de composição por várias vezes ao serem inseridos no solo, conseqüências das características inerentes a esse tipo de sensor, caracterizados por serem descartáveis. Em substituição, foram utilizados eletrodos íon-seletivos (ISE) de configuração convencional, de construção mais simples, menor nível de ruído e maior robustez, apresentando melhores resultados.

Na construção dos sensores de configuração convencional foi utilizado um “plug” fêmea de cobre de 2 mm de comprimento soldado a uma peça circular de cobre cortada de um fio de cobre, sendo esse conector inserido em um tubo de PVC com 6 mm de diâmetro interno e 18 mm de comprimento e sua extremidade preenchida com a pasta de grafite-epóxi utilizada como transdutor, a qual foi seca a 70 °C por 24 h. Durante o preenchimento, tomou-se o cuidado de não se encher completamente o espaço restante a fim de manter um pequeno vazio entre a

superfície do compósito grafite-epóxi e a saída do tubo de PVC utilizado para facilitar o depósito da membrana seletiva, dificultando a saída dessa membrana decorrente de sua utilização, além de promover uma camada mais espessa de membrana, aumentando a vida útil do sensor, já que se sabe que há uma perda por lixiviação da membrana no decorrer do uso. A Figura 4.9 mostra o esquema simplificado de construção do sensor e o aspecto final do mesmo para utilização.

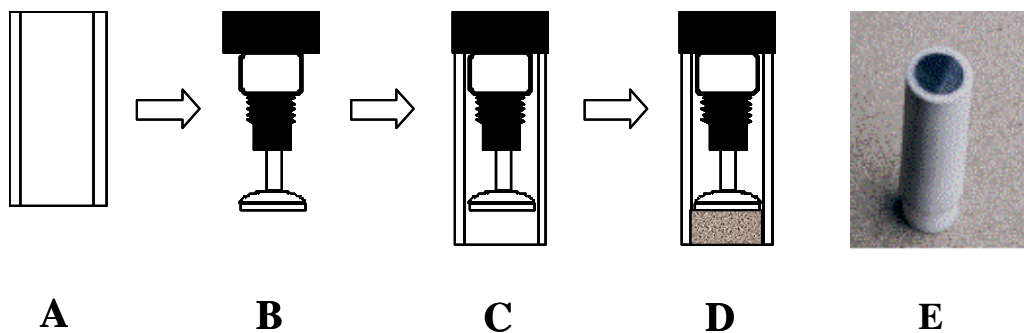


FIGURA 4.9. Desenho esquemático da fabricação do sensor ISE de configuração convencional. (A) Tubo de PVC (6 mm de diâmetro interno, 18 mm de comprimento); (B) Conector fêmea de 2 mm soldado a uma peça circular de cobre; (C) Montagem final do sensor; (D) Detalhe da região onde o transdutor grafite-epóxi é depositado; (E) Foto do sensor.

A resina epóxi foi preparada pela mistura de Araldite M (Ciba-Geigy) e do composto Hardener HR (Ciba-Geigy) numa respectiva proporção em peso de 5:2. A essa mistura foi adicionado pó de grafite (Merck) numa proporção em peso de 1:1. Em ambos os sensores a deposição da membrana seletiva à base de PVC foi realizada adicionando-se o coquetel sobre a superfície do transdutor grafite-epóxi, gota a gota, a cada 15 minutos, para deixar evaporar o solvente e evitar a formação de bolhas. Um filme homogêneo é formado após a evaporação do solvente e, o número de gotas que se deposita definirá a espessura da membrana. Depois de finalizada a deposição, deixa-se secar a membrana por 24h em contato com o ar (Figura 4.10).



FIGURA 4.10. Detalhes da etapa de construção do eletrodo. Esquerda: deposição da membrana gota a gota. Direita: gota de coquetel sensor depositada e deixada em repouso para evaporação do solvente.

4.3.1.2 – Preparação das membranas poliméricas

A metodologia de preparação dos coquetéis sensores é bastante simples. Os componentes são pesados em um frasco de vidro e se adiciona THF (Fluka, Suíça) na proporção de 0,05 mL por cada grama de PVC (Fluka, Suíça) pesado. O THF dissolve e homogeneiza os diferentes componentes do coquetel sensor. A composição em peso típica de uma membrana polimérica inclui 30-33 % de PVC, 60-65 % de plastificante, 0,2-7,0 % de ionóforo e 0,25-0,50 % de um aditivo.

Na Tabela 4.2 estão descritas as formulações das membranas utilizadas no desenvolvimento do trabalho. Todos os reagentes foram adquiridos da Fluka (Suíça), com exceção dos ionóforos para determinação de fosfato e nitrato e do aditivo brometo de tetraoctilamônio (TOABr), os quais foram sintetizados no Grupo de Sensores e Biossensores (GSB) da UAB.

Apesar do eletrodo de cobalto poder ser utilizado para a determinação de fosfato, o mesmo não foi aplicado na sonda analítica devido a sua melhor faixa de pH de trabalho estar situada entre 4 e 5. Outra justificativa para a não utilização é a aplicação da membrana polimérica em outro tipo de amostra, além da detecção de fósforo em águas testada com sucesso pelo GSB de Barcelona.

TABELA 4.2. Formulações das membranas poliméricas (% em peso).

Analito – Composição da Membrana
POTÁSSIO
1,00 % Valinomicina (ionóforo)
65,50 % bis(2-etilhexil)sebacato (plastificante)
0,50 % tetrakis(4-clorofenil)borato de potássio (aditivo)
33,00 % cloreto de polivinila (PVC) de alta massa molecular
CÁLCIO
29,87 % cloreto de polivinila (PVC) de alta massa molecular
63,16 % Di-n-octilfenilfosfonato (plastificante)
7,02 % Bis[4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil]fosfato de cálcio (ionóforo)
P (H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻)
1,00 % Ionóforo de fosfato (Triamina)
65,00 % 2-Nitrodifenil éter (plastificante)
0,50 % brometo de tetraoctilamônio (aditivo)
34,50 % cloreto de polivinila (PVC) de alta massa molecular
NITRATO
6,00 % Tridodecilmetilamônio nitrato (ionóforo)
65,00 % 2-Nitrofenil octil éter
29,00 % cloreto de polivinila (PVC) de alta massa molecular
AMÔNIO
1,00 % Nonactina (ionóforo)
33,00 % cloreto de polivinila (PVC) de alta massa molecular
66,00 % Dibutil sebacato (plastificante)
pH
1,00 % Tridodecilamina (ionóforo)
65,50 % bis(2-etilhexil)sebacato (plastificante)
0,50 % tetrakis(4-clorofenil)borato de potássio (aditivo)
33,00 % cloreto de polivinila (PVC) de alta massa molecular

4.3.1.3 – Sonda analítica

Uma sonda foi construída com a incorporação dos sensores eletroquímicos a diferentes profundidades, assim como a instrumentação associada

necessária para coletar, armazenar e processar os dados de forma automatizada. A sonda desenvolvida é formada por um tubo de PVC de 1 metro de comprimento possuindo os sensores fixos a três alturas distintas (5, 20 e 50 cm). Ao lado de cada sensor químico foi instalado um sensor físico (LM 35 DZ, National Instruments) para o monitoramento da temperatura. A instrumentação contendo os sistemas de amplificação dos sinais gerados pelos sensores e de transmissão dos dados está situada em uma pequena caixa na parte superior da sonda. Nesta caixa estão os sistemas de controle tanto dos sensores químicos a serem utilizados quanto dos sensores físicos de temperatura, também acoplados para o acompanhamento deste parâmetro, já que o mesmo possui grande influência na resposta dos sensores químicos. Os sensores são acoplados no corpo da sonda, presos em um rebaixamento feito no tubo de PVC para o perfeito encaixe, de modo que o sensor não fique acima do nível da superfície do tubo, minimizando a abrasão por arraste conseqüente da introdução e retirada da sonda do solo.

Os sensores de configuração convencional foram encaixados no corpo da sonda de acordo com a configuração demonstrada na Figura 4.11, onde se pode observar o sensor instalado no centro de uma placa de cobre, a qual tem o papel de eletrodo de referência. A utilização de uma placa de cobre como eletrodo de referência se justifica pelo fato de que a mesma, em contato com o solo, sofre corrosão e se passiva, formando uma camada de óxido a qual gera um potencial constante (eletrodo de metal/óxido metálico). Além disso, o mesmo possui uma grande área superficial se comparado ao eletrodo de trabalho, outra condição necessária para a caracterização do mesmo como eletrodo de referência. Acima do sensor fica localizado um orifício o qual é a saída de um tubo de polietileno de 5 mm de diâmetro, projetado para ser utilizado na calibração do sensor após a inserção no solo. A entrada deste tubo localiza-se na parte superior da sonda, abaixo da caixa de controle da instrumentação, por onde são inseridas soluções de concentração conhecida do analito.

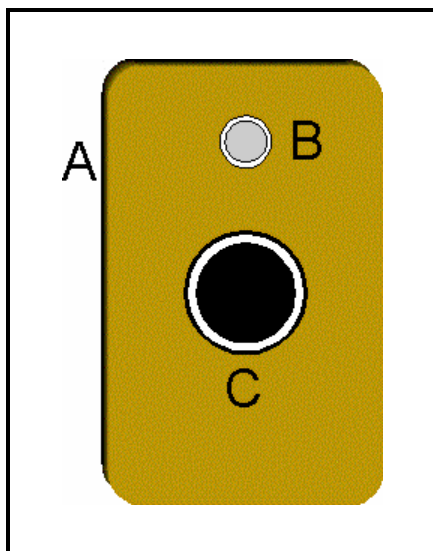


FIGURA 4.11. Vista frontal do sensor na forma como fica instalado no corpo da sonda utilizada no trabalho. (A) Placa de cobre (eletrodo de referência); (B) orifício pelo qual se injetam soluções padrão do analito para a calibração do sensor; (C) sensor íon-seletivo.

Para a determinação do teor de umidade do solo foi empregada a técnica da Refletometria no Domínio do Tempo (TDR). Para isso, várias configurações das antenas de transmissão e métodos de confecção das mesmas foram estudadas. A primeira constituía-se de duas trilhas de cobre impressas e coladas sobre o tubo de PVC (Figura 4.12).

Após a especificação de todas as dimensões, um desenho em tamanho real da antena foi confeccionado utilizando-se o programa Tango de diagramação de circuitos eletrônicos e, impresso na folha de papel “transfer” através de impressão a laser. O desenho impresso foi então transferido para a placa de cobre com a ajuda de uma prensa manual à quente. A placa foi isolada na face contrária ao desenho com a utilização de fita adesiva transparente e mergulhada na solução de percloroato de ferro por 20 a 30 minutos. Nessa etapa ocorre a corrosão do cobre que não está protegido nem pelo “toner” da impressora a laser nem pela fita adesiva, deixando somente as trilhas de cobre correspondentes ao desenho da antena TDR.

Com as trilhas de cobre sobre a superfície da fita, procedeu-se a etapa de transferência para o tubo de PVC (sonda). Primeiro realizou-se a retirada do toner pela raspagem com a ajuda de uma espátula, deixando a superfície de cobre a amostra. Logo em seguida passou-se uma camada de cola Araldite sobre todo o

conjunto antena/fita adesiva e colou-se na parede externa da sonda, próximo ao sensor íon-seletivo. Após a secagem da cola, retirou-se a fita adesiva (que não ficou colada pela incompatibilidade dos materiais adesivos da fita e do Araldite) tendo o cuidado de que a antena não seja removida juntamente com ela. Removida a fita, procedeu-se a solda dos terminais da antena à instrumentação de conexão ao aparelho de TDR que estão instalados no interior do tubo e possuem saída na parte inferior da caixa de controle. A Figura 4.13 mostra a antena instalada no corpo da sonda e as conexões de contato com o equipamento responsável pela análise TDR.

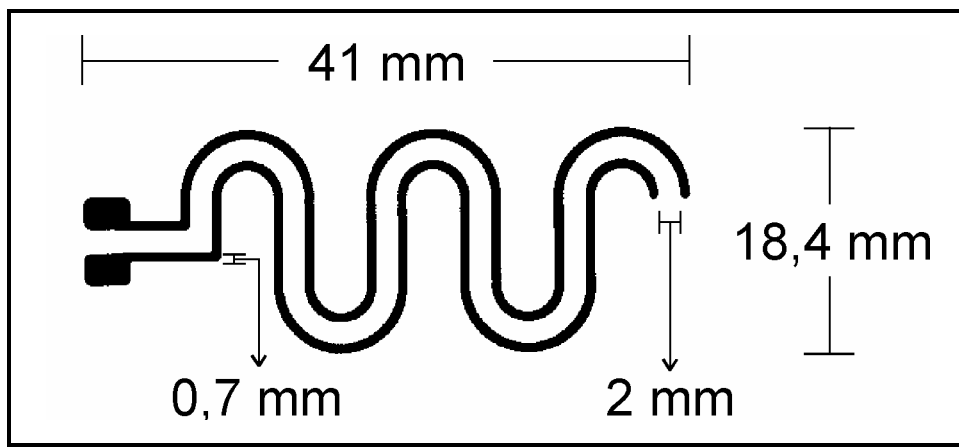
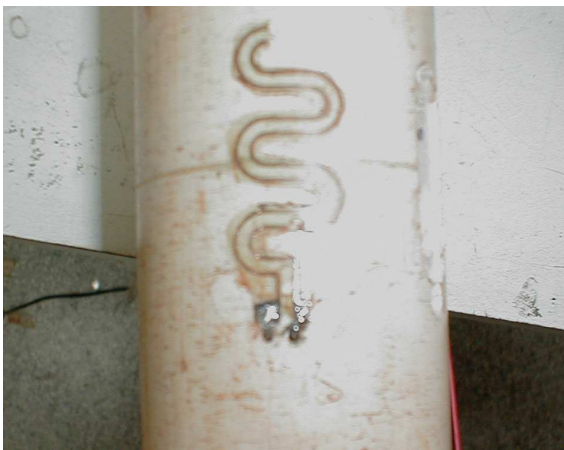
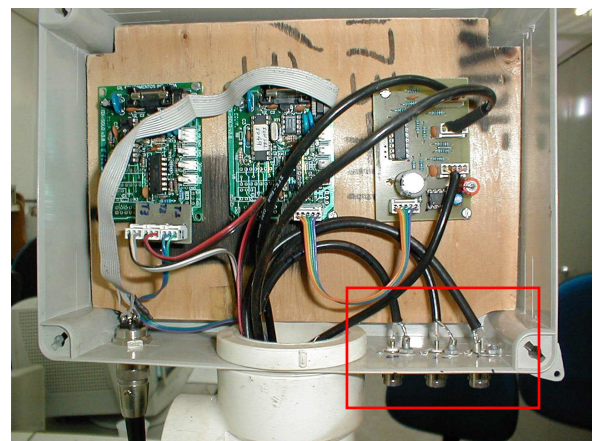


FIGURA 4.12. Desenho e especificações da antena desenvolvida para análise TDR.



(a)



(b)

FIGURA 4.13. (a) Antena TDR instalada no corpo da sonda. (b) Conexões de contato com o equipamento para a análise TDR.

A segunda configuração das antenas de transmissão diferenciava-se da anterior apenas pelo modo de deposição das trilhas sobre o tubo. Nesta, as antenas de transmissão eram feitas de uma resina epóxi contendo prata em sua formulação (EpoTek H77, Epoxy Technology), serigrafada diretamente sobre o tubo de PVC. Na terceira tentativa de construção da antena de transmissão optou-se pela configuração mais simples, ou seja, foram utilizadas duas hastes de cobre de 10 cm de comprimento coladas paralelamente no tubo de PVC (Figura 4.14). Para a determinação da umidade por refletometria no domínio do tempo foram utilizados um aparelho da marca Tektronix, modelo 1502B e o software WinTDR 6.0, da Utah State University.

A Figura 4.15 mostra um desenho da sonda analítica desenvolvida para a avaliação dos nutrientes diretamente no solo e a Figura 4.16 mostra uma foto do conjunto de sensores no modo como estão adaptados ao corpo da sonda. A eletrônica de aquisição de cada sensor foi individualizada, com a adição de um circuito amplificador de corrente na parte interna do tubo e um circuito diferencial na caixa superior, possibilitando a aquisição de sinais negativos. Toda instrumentação é alimentada por uma bateria de 12 V.



FIGURA 4.14. Foto da antena de transmissão para determinação da umidade por TDR formada por duas hastes paralelas de cobre.

A instrumentação necessária para a obtenção dos resultados de modo completamente automático foi desenvolvida pela Embrapa Instrumentação

Agropecuária, em São Carlos, SP, pelo Dr. André Torre-Neto, colaborador deste projeto. A transmissão dos dados é digital, usando o protocolo de comunicação RS-485. O programa de aquisição foi desenvolvido utilizando LabVIEW™ (National Instruments), uma linguagem gráfica de programação. Active X foi utilizado para produzir e armazenar os dados em forma de planilha eletrônica Excel (Microsoft®). Dois conjuntos de dados foram gerados: um conjunto a cada cinco minutos e o outro gerado pela média dos dados de cada hora. Nas Figuras 4.17 e 4.18 tem-se a visualização da janela do programa desenvolvido para o gerenciamento da sonda analítica e da janela da planilha eletrônica responsável pelo armazenamento dos dados obtidos, respectivamente.

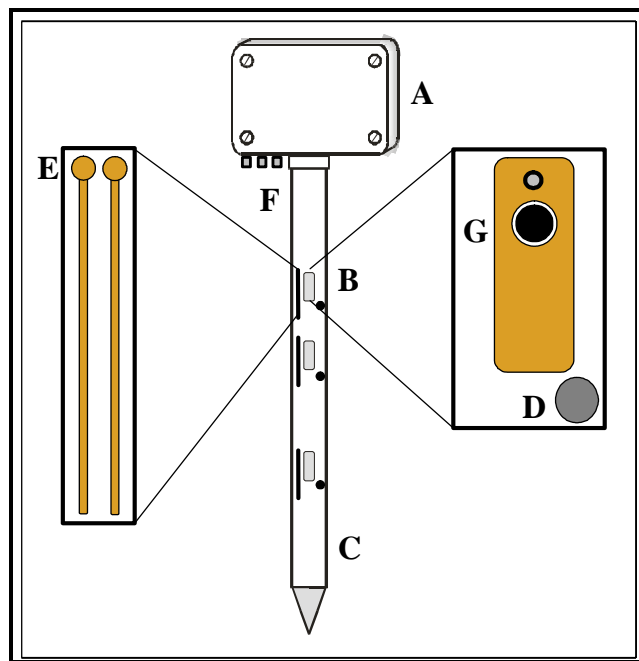


FIGURA 4.15. Desenho esquemático da sonda construída. (A) Caixa contendo a instrumentação eletrônica de controle dos sensores químicos e físicos (temperatura); (B) um dos sensores adaptados ao corpo da sonda e; (C) tubo de PVC; (D) sensor de temperatura; (E) sensor de umidade (antena de transmissão); (F) conexões das antenas de transmissão com o aparelho de TDR; (G) sensor íon-seletivo de configuração convencional.



FIGURA 4.16. Foto do conjunto de sensores adaptado ao corpo da sonda.

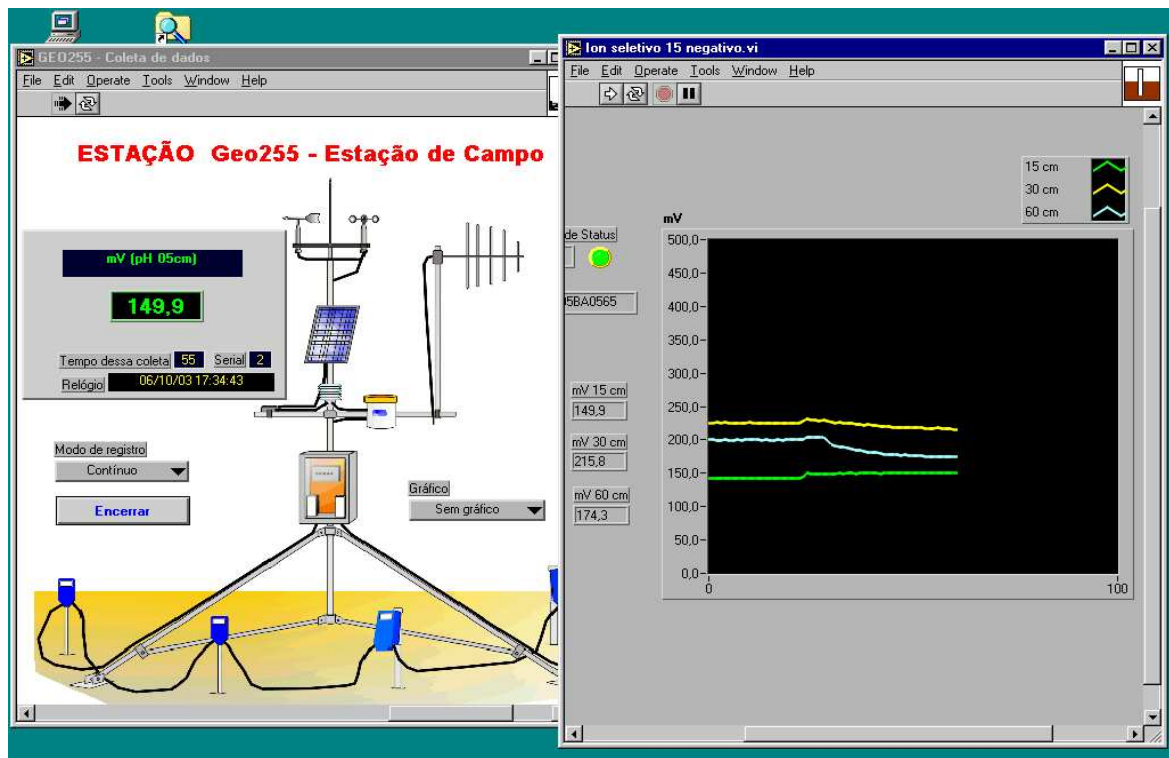


FIGURA 4.17. Janelas do programa desenvolvido para o gerenciamento da sonda analítica.

	A	B	C	D	E	F	G	H
331	Total/hora							
332	GEO 255							
333		mV	mV	mV	T.Solo 1(05cm.)	T.Solo 1(20cm.)	T.Solo 1(50cm.)	
		pH 05cm	pH 20cm	pH 50cm	°C	°C	°C	
334	15:00	304,69	241,70	302,73	18,82	17,65	17,84	
335	15:05	306,15	243,65	302,73	18,63	17,65	17,65	
336	15:10	304,69	245,61	300,29	18,63	17,65	17,65	
337	15:15	290,53	232,42	289,55	18,82	17,84	17,84	
338	15:20	291,02	232,91	289,55	18,63	17,65	17,65	
339	15:25	290,04	234,86	292,48	18,63	17,65	17,65	
340	15:30	288,57	235,35	243,65	18,63	17,65	17,65	
341	15:35	239,26	236,33	251,95	18,63	17,84	17,84	
342	15:40	234,86	235,84	251,95	18,63	17,65	17,65	
343	15:45	234,86	238,77	250,00	18,63	17,65	17,65	
344	15:50	220,70	236,82	226,56	18,63	17,65	17,65	
345	15:55	202,15	239,26	222,66	18,82	17,84	17,84	
346	Total/hora							
347		Mínimas			18,63	17,65	17,65	
348		Máximas			18,82	17,84	17,84	
349		Médias	267,29	237,79	268,68	18,68	17,70	17,71
350	Total/hora							
351	GEO 255							
352								

FIGURA 4.18. Planilha eletrônica responsável pelo armazenamento dos dados obtidos.

4.3.1.4 – Avaliação da sonda analítica

Antes da avaliação da sonda diretamente no solo, era realizada uma avaliação da membrana para o estabelecimento de parâmetros em função das características eletroanalíticas pertencentes a cada tipo de membrana. A utilização de algodão umedecido com soluções analíticas dos analitos nas concentrações 1×10^{-5} a 1×10^{-1} mol L⁻¹ foi efetuada com o propósito de reproduzir as condições de operação do eletrodo no solo de maneira aproximada. Neste experimento foram avaliadas a sensibilidade, a faixa linear de trabalho e o limite de detecção de cada membrana depositada.

A avaliação da sonda no solo incluiu a observação do comportamento da instrumentação eletrônica e do perfil dos analitos após a variação dos mesmos. O esquema para a realização desta etapa é o demonstrado na Figura 4.19, onde se pode observar a sonda instalada dentro de um tubo de PVC preenchido com solo. O tubo externo foi construído com três saídas laterais (conexões em T), situadas nas mesmas alturas em que os sensores estão fixos na sonda, possibilitando a coleta de

amostras de solo para efeito de comparação com metodologias usuais empregadas para avaliação da fertilidade (Seção 4.3.2).

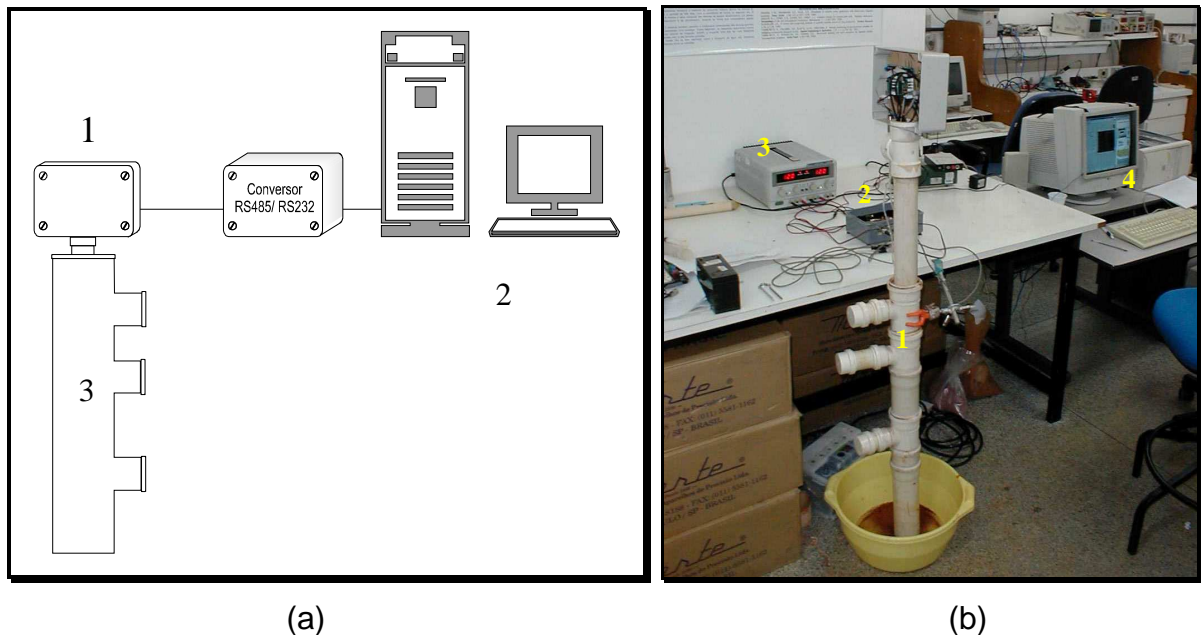


FIGURA 4.19. a) Esquema de montagem para a avaliação da sonda em laboratório. (1) Sonda de análise; (2) Sistema de aquisição e tratamento dos dados; (3) Tubo de PVC com aberturas a 5, 20 e 50 cm de altura. (b) Foto do sistema. (1) sonda instalada no solo; (2) Conversor RS 485 / RS 232; (3) fonte de alimentação 12 V; (4) sistema de aquisição e tratamento dos dados (PC).

Após a introdução da sonda no solo, uma grande quantidade de água era jogada ao redor da mesma para permitir um melhor contato da interface membrana/solo. A avaliação dos sensores foi feita da seguinte forma: após o restabelecimento do equilíbrio hidrodinâmico do solo (teor de água próximo da sonda igual ao do solo das vizinhanças), foram injetadas, com auxílio de uma seringa, alíquotas de 3 mL de água e de soluções com concentrações diferentes dos analitos nos tubos de polietileno, cujas saídas se encontram acima dos sensores, sendo registradas as leituras após a estabilização do sinal, que ocorria em aproximadamente 24 horas.

Além desse procedimento, também foi feita outra forma de avaliação dos sensores e da sonda. Nesta etapa, foi feita adição das soluções dos analitos diretamente ao solo, por fora da sonda, sem o auxílio dos tubos de polietileno, sendo registradas as variações de potencial. Após a adição do analito e variação do

potencial, uma grande quantidade de água era adicionada para proporcionar o retorno do potencial à linha base inicial. Esse tipo de avaliação foi realizado por ser o que mais se aproximaria da realidade no dia-a-dia do cultivo no campo, onde os fertilizantes são aplicados sobre o solo.

Para se avaliar a instrumentação de transmissão dos dados à longa distância, testes com a sonda analítica foram realizados em um solo próximo ao laboratório, de acordo com o esquema da Figura 4.20. Amostras foram coletadas em cada altura a 0,5 m de distância da sonda e analisadas pelo método padrão, sendo comparadas com o potencial provido pelo sistema de sensores.

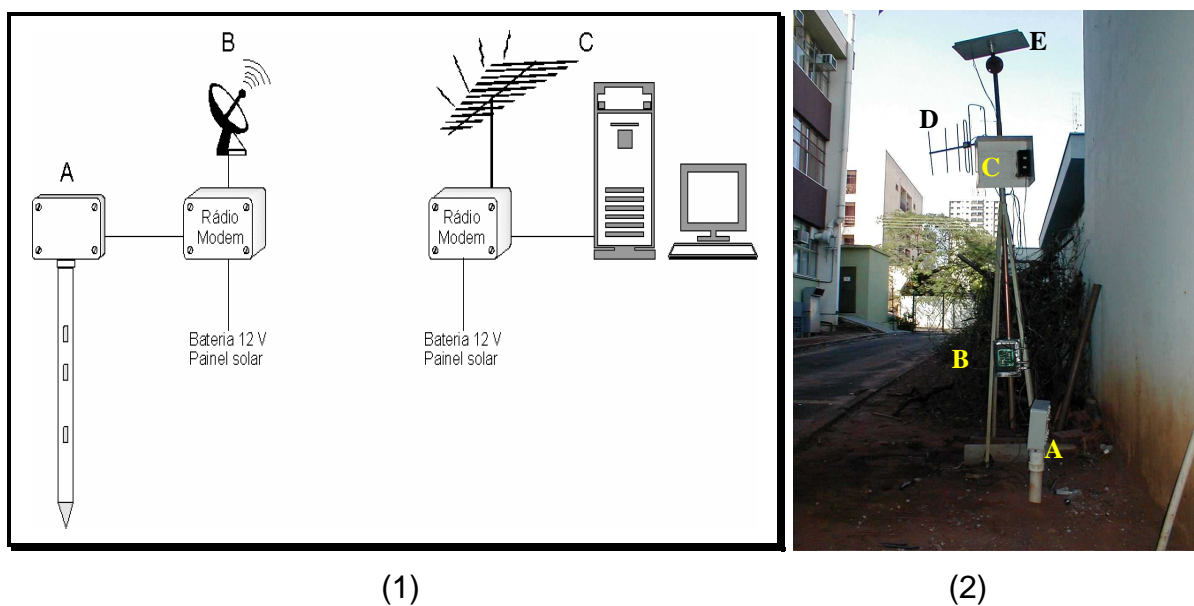


FIGURA 4.20. (1) Esquema de montagem para a avaliação da sonda no campo. (A) Sonda de análise; (B) Sistema de conversão e transmissão dos dados; (C) Sistema de recepção, aquisição e tratamento dos dados. (2) Foto do sistema montado no solo próximo ao laboratório. (A) Sonda instalada no solo; (B) Rádio transmissor; (C) Bateria de 12 V; (D) Antena de transmissão; (E) Painel solar.

4.3.1.5 – Sonda NPK

Uma nova sonda foi construída com a incorporação de quatro sensores eletroquímicos na mesma profundidade, assim como a instrumentação associada necessária para coletar, armazenar e processar os dados de forma automatizada. A sonda desenvolvida possui características similares à anterior, que opera com apenas um sensor em cada profundidade e um sensor de temperatura. Dessa forma,

proporcionou-se o desenvolvimento de um protótipo de sistema analítico de monitoramento dos principais macroelementos necessários ao crescimento dos cultivos em geral, ou seja, N, P e K.

A Figura 4.21 mostra uma foto dos quatros sensores adaptados a placa de cobre utilizada como eletrodo de referência, da mesma forma como para a sonda anterior. Observa-se na parte superior da placa um orifício, o qual serve para adaptar a saída de um tubo de silicone utilizado na introdução das soluções analíticas empregadas na variação da concentração dos elementos no solo. Na figura pode-se observar também a disposição do conjunto de sensores no corpo da sonda, com os respectivos circuitos de aquisição e amplificação do sinal gerado, os quais vão dispostos internamente no tubo de PVC. Na disposição final do conjunto de sensores no tubo de PVC, foram adaptados sensores de temperaturas ao lado das saídas dos tubos de silicone. Os sensores são semelhantes aos já utilizados anteriormente.

Foram realizadas apenas pequenas adaptações no software de aquisição e armazenamento de dados para a visualização dos potenciais dos quatro sensores ao mesmo tempo. Neste caso, três novas janelas do programa são iniciadas, uma para cada altura de trabalho (5, 20 e 50 cm), com a demonstração dos potenciais gerados pelos quatro sensores simultaneamente. Adicionalmente, uma outra janela também é aberta demonstrando os perfis de temperatura para cada profundidade estudada.

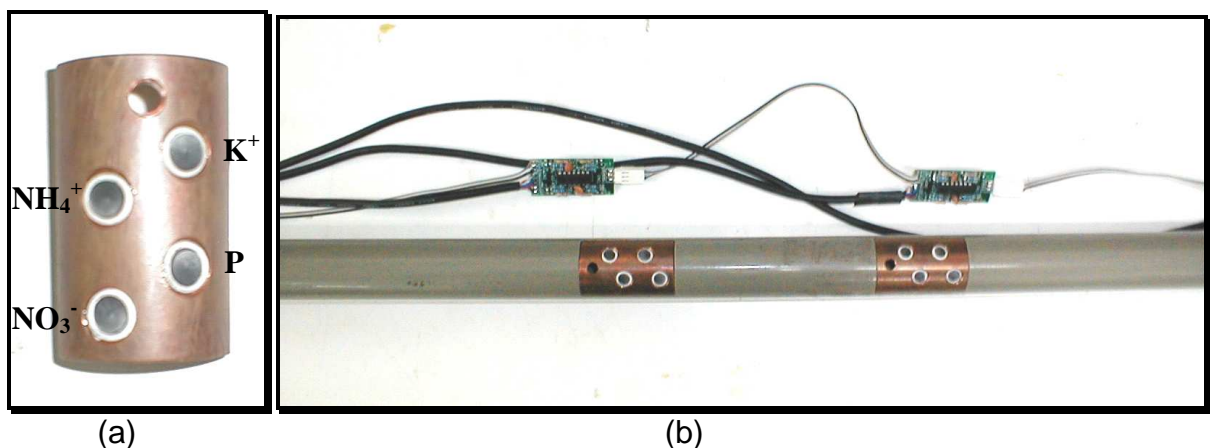


FIGURA 4.21. Esquema de montagem da sonda com 4 eletrodos. (a) Sensores adaptados à placa de cobre utilizada como eletrodo de referência; (b) Disposição dos conjuntos de sensores no corpo da sonda formado por um tubo de PVC, juntamente com os sistemas de aquisição e amplificação de cada conjunto.

4.3.2 – Metodologias Comparativas de Determinação dos Nutrientes Estudados

4.3.2.1 – Potássio, cálcio e fósforo

Baseia-se no procedimento utilizado pelo “Programa IAC de Controle de Fertilidade de Solos”, desenvolvido e coordenado pelo Instituto Agrônomo de Campinas, o qual abrange a maioria dos laboratórios do Estado de São Paulo (VAN RAIJ et al., 2001). Trata-se da transferência do potássio, cálcio e fósforo presente no solo para uma resina trocadora de íons em meio aquoso com subsequente separação de resina do solo e extração dos elementos com solução ácida de cloreto de sódio. A determinação do teor de potássio se dá pela medição da energia radiante emitida pelo potássio em fotômetro de chama. A determinação do teor de cálcio se dá pela medição da energia radiante absorvida pelo elemento em espectrofotômetro de absorção atômica com chama (FAAS). Já a determinação do teor de fósforo é realizada utilizando-se um sistema de análise em fluxo, através do método do azul de molibdênio.

4.3.2.2 – Acidez

- **Materiais e Equipamentos**

1. Potenciômetro.
2. Mesa agitadora circular horizontal.

- **Reagentes e Soluções**

1. Cloreto de potássio (KCl) 1,0 mol L⁻¹;
2. Água deionizada;
3. Cloreto de Cálcio (CaCl₂.2H₂O) 0,01 mol L⁻¹ com pH entre 5,5 e 6,5 ajustado com Ca(OH)₂ a 0,1% ou HCl 0,1 mol L⁻¹.

- **Procedimento**

Uma massa equivalente a 10 g de terra fina seca ao ar (TFSA) foi transferida para frasco de 50 mL de capacidade, sendo adicionado 25 mL de água ou KCl 1,0 mol L⁻¹ ou ainda CaCl₂.2H₂O 0,01 mol L⁻¹. Após agitação por 5 minutos, a mistura era deixada em repouso por tempo nunca inferior que 30 minutos e nem

superior a 3 horas. A seguir era feita nova agitação, sendo a leitura do pH realizada imediatamente na suspensão.

4.3.2.3 – Nitrogênio (nitrato e amônio)

A determinação das formas inorgânicas do N foram realizadas nos extratos dos solos com a utilização do sistema de análise em fluxo desenvolvido e descrito na Seção 4.1.

Resultados e Discussão

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – Sistema de Análise em Fluxo para a Determinação de Nitrogênio em Amostras Agronômicas

Os resultados apresentados com o emprego do método proposto para determinação de N-NH_4^+ demonstraram excelente concordância com os resultados certificados pelo PCI (Tabela 5.1).

TABELA 5.1. Resultados do método proposto para determinação de N-NH_4^+ em amostras de tecido vegetal.

Amostra	PCI* / %N *	Proposto (FIA) / %N
1	17,1 ± 2	15,6 ± 0,2
2	14,4 ± 2	15,4 ± 0,2
3	34,1 ± 4	34,4 ± 0,2
4	9,40 ± 2	9,50 ± 0,1
5	26,7 ± 2	26,7 ± 0,2
6	63,4 ± 5	61,5 ± 0,3

* Programa Colaborativo Interlaboratorial da Embrapa

Quanto à modificação do sistema de determinação de amônio para a determinação de nitrato e nitrito, os resultados apresentados nos ensaios de adição e recuperação mostravam inicialmente sempre uma tendência nas amostras de extrato de solo de subestimar o valor experimental frente ao teórico. Porém esse fenômeno não ocorria quando da análise de soluções com concentração conhecida de N-NO_3^- , com resultados de recuperação analíticos. Ficou claro então um forte efeito da matriz sobre a eficiência da redução na coluna de zinco metálico, efeito esse possivelmente proveniente do excesso de matéria orgânica inerente a esse tipo de amostra (ROCHA e REIS, 2000). Para contornar esse problema realizou-se uma rápida filtração em papel de filtro qualitativo para a avaliação desse parâmetro e os resultados mostraram que há uma diminuição do erro relativo entre o valor teórico e

o valor experimental, como demonstrado na Figura 5.1. Portanto, foi adaptada uma pequena câmara de filtração em fluxo, no tubo de coleta da amostra, na qual é introduzido um disco de papel de filtro qualitativo para a realização da etapa de filtração.

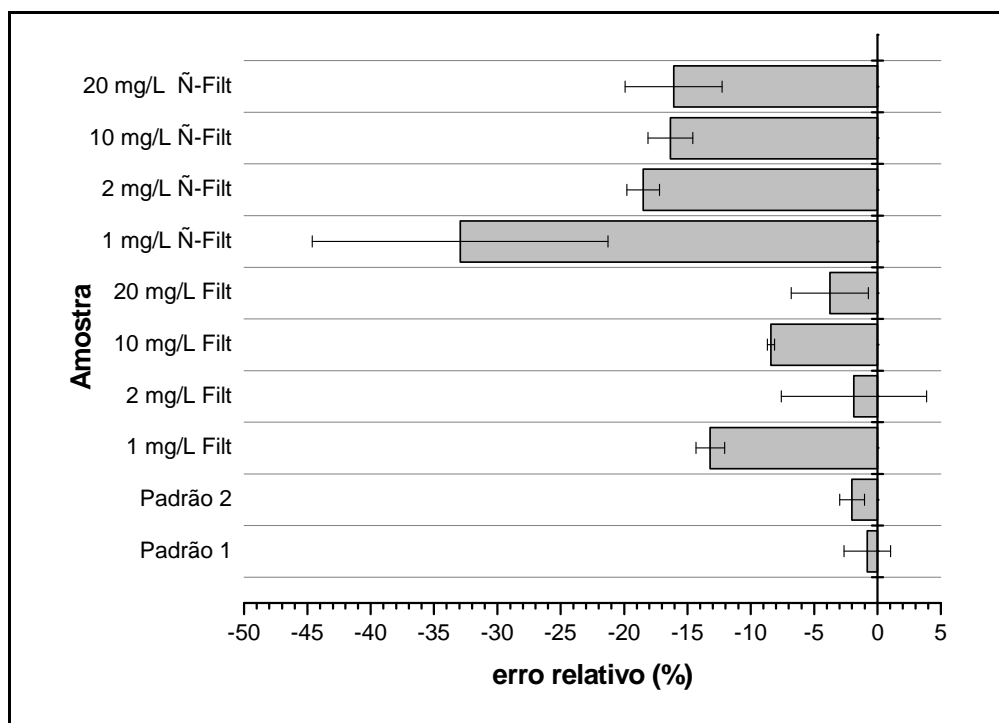


FIGURA 5.1. Demonstração do erro relativo entre o valor teórico do padrão e o valor experimental obtido pelo método proposto. Padrão 1 e 2: padrões químicos (solução de NH_4NO_3); amostra 1 mg L^{-1} - 20 mg L^{-1} Filt: extratos filtrados de adições sucessivas de N a uma amostra de solo nessas respectivas concentrações; amostra 1 mg L^{-1} - 20 mg L^{-1} Ñ-Filt: extratos não-filtrados de adições sucessivas de N a uma amostra de solo nessas respectivas concentrações.

Ainda assim podiam-se observar resultados com recuperações não analíticas, demonstradas por erros em torno de 10 a 15% abaixo dos valores teóricos esperados. Atribuiu-se isso ao fato da amostra apresentar ainda uma certa quantidade de matéria orgânica (principalmente matéria orgânica dissolvida), que não foi retirada na etapa de filtração e ao fato de que a curva analítica (apenas construída em solução de KCl – solução extratora) não estava representando a matriz da amostra. Dessa forma, realizou-se a confecção da curva analítica sobre uma amostra aleatoriamente escolhida dentro de um lote de amostras semelhantes

para se minimizar o efeito da matriz sobre os resultados (compatibilização de matriz). Os resultados apresentados na Tabela 5.2 demonstram uma melhora na porcentagem de recuperação com o método de compatibilização de amostra proposto. O método baseado apenas na calibração com curva em solução de KCl apresentou uma recuperação média inferior a 80%, sendo que o emprego da compatibilização de matrizes permitiu recuperações próximas a 95%. Assim, a análise deve ser executada com a utilização de uma curva analítica compatibilizada com a amostra.

TABELA 5.2. Comparação entre os métodos de calibração empregados na análise de extratos de solo.

Método empregado	% de recuperação
Curva analítica em meio KCl	74,7 ± 1,5
Compatibilização de matriz	94,0 ± 2,0

A Figura 5.2 apresenta ilustrações de curvas analíticas características obtidas com o método proposto para nitrogênio amoniacal e nitrogênio total. De maneira geral, os resultados sugerem a viabilidade da utilização do método aqui proposto, o qual aumenta o rendimento, diminui custos com energia, reagentes e mão-de-obra especializada (homem/hora) e diminui a geração de resíduos laboratoriais, sem afetar a qualidade dos resultados. Na Tabela 5.3 é apresentado um demonstrativo da comparação entre o método proposto e o método Kjeldahl-Winkler com relação às características de ambos (velocidade analítica, geração de resíduos e custos).

TABELA 5.3. Quadro comparativo entre o método proposto e o método utilizado atualmente na Embrapa.

Método	Amostras/mês	Resíduo (mL/amostra)	Custo (R\$/amostra)*
Kjeldahl	440	60	3,70
Análise em fluxo	9600	11**	0,10

* custo da análise inclui mão-de-obra (homem/hora trabalhada) e insumos (consumo de reagentes e de energia).

** resíduo tratado.

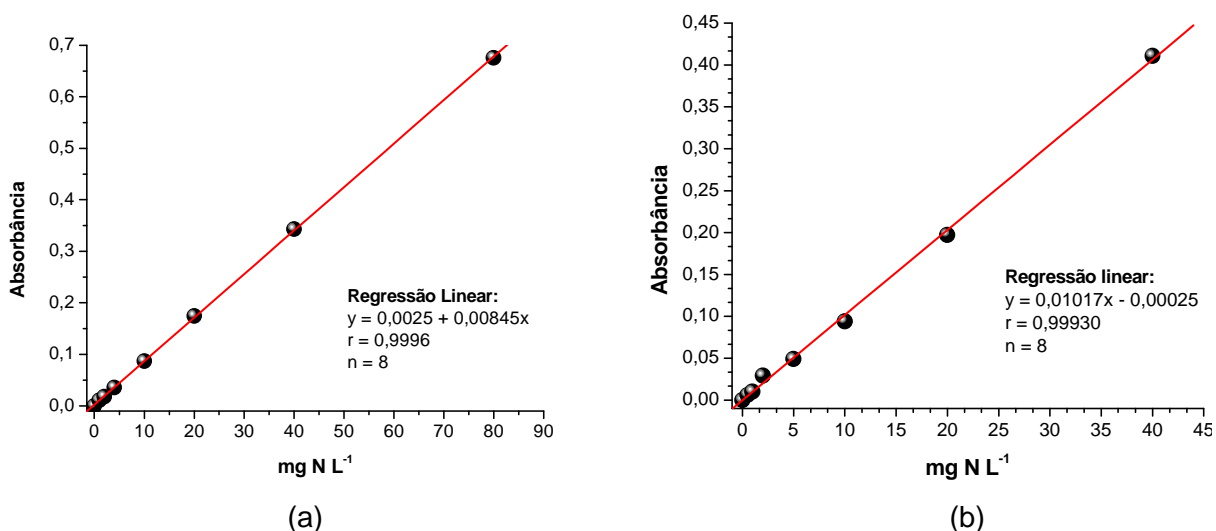


FIGURA 5.2. (a) Curva analítica característica obtida para nitrogênio total. (b) Curva analítica característica obtida para nitrogênio amoniacal.

5.2 – Sistema de Análise em Fluxo Potenciométrico para a Determinação Simultânea de Fitato e Fosfato: avaliação nutricional de sementes grãos utilizados em nutrição animal

5.2.1 – Determinação do Fósforo Inorgânico (P_i)

Para o estabelecimento das variáveis químicas e hidrodinâmicas do sistema de fluxo contínuo utilizado para determinar o fósforo inorgânico, foram avaliados parâmetros como composição e pH da solução-tampão utilizada como fluxo transportador, vazão e volume da amostra. De acordo com os diferentes trabalhos descritos para a determinação de fosfato usando um eletrodo de cobalto em um sistema de fluxo, o tampão biftalato de potássio a pH 4 foi selecionado (XIAO et al., 1995; MERUVA e MEYRHOFF, 1996; MERUVA e MEYRHOFF, 1997; CHEN et al., 1997; DE MARCO et al., 1998; DE MARCO e PHAN, 2003). Assim, a otimização do sistema nesse estágio foi focalizada na avaliação da influência da vazão do fluxo transportador e do volume da amostra na resposta do eletrodo. Os sinais analíticos apresentados nesta discussão são valores absolutos de potenciais obtidos pela diferença entre o potencial correspondente ao pico e o potencial correspondente à linha-base.

A Figura 5.3a mostra a avaliação do volume da amostra e a Figura 5.3b, da vazão do fluxo transportador. O volume de 500 μL foi selecionado, o qual demonstrou maior diferença absoluta de potencial, com menor dispersão dos resultados. Usando o volume da amostra selecionado acima, o fluxo de 2,8 mL min^{-1} foi selecionado.

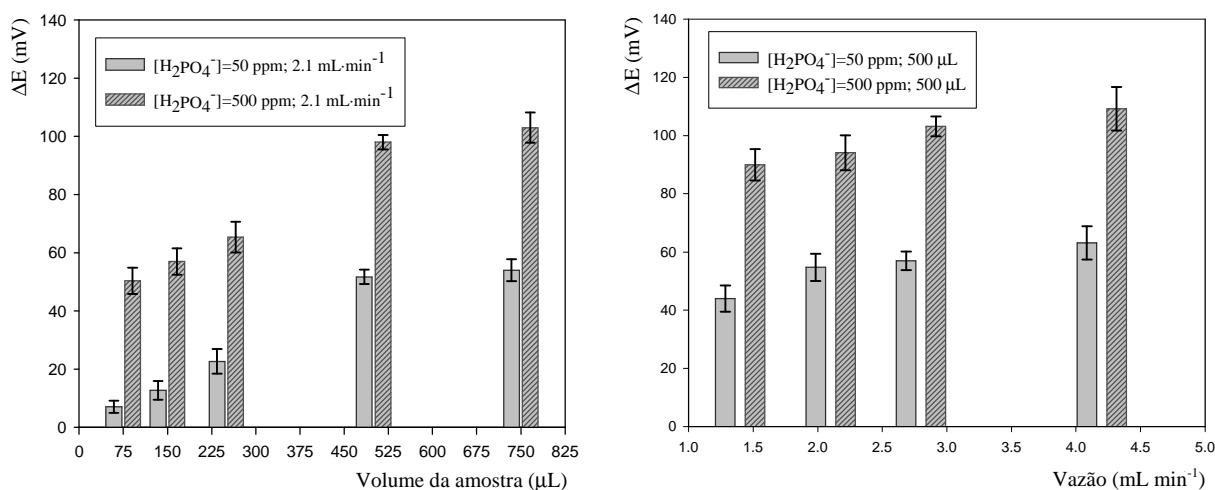


FIGURA 5.3. (a) Avaliação do volume da amostra na determinação de P_i . Condições: soluções analíticas de 50 e 500 mg L^{-1} , tampão biftalato de potássio $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ pH 4 e vazão do fluxo transportador 2,1 mL min^{-1} . (b) Avaliação da vazão na determinação em fluxo de P_i . Condições: soluções analíticas de 50 e 500 mg L^{-1} , tampão biftalato de potássio $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ pH 4 e volume da amostra 500 μL .

Com o objetivo de determinar as características analíticas obtidas sob as condições experimentais definidas anteriormente, uma curva analítica de calibração foi realizada. Como pode ser visto na Figura 5.4, uma correlação linear entre ΔE versus $\log [\text{H}_2\text{PO}_4^-]$ foi obtida, com uma sensibilidade de 47 mV dec^{-1} , numa faixa linear de trabalho cobrindo $3,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $3,2 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de P_i . (10 a 1000 mg L^{-1} de P_i). Os parâmetros de calibração estão de acordo com os reportados na literatura; além disso, a faixa linear de trabalho obtida pelo eletrodo de cobalto cobre convenientemente a maioria dos níveis de concentração encontrados nas amostras examinadas.

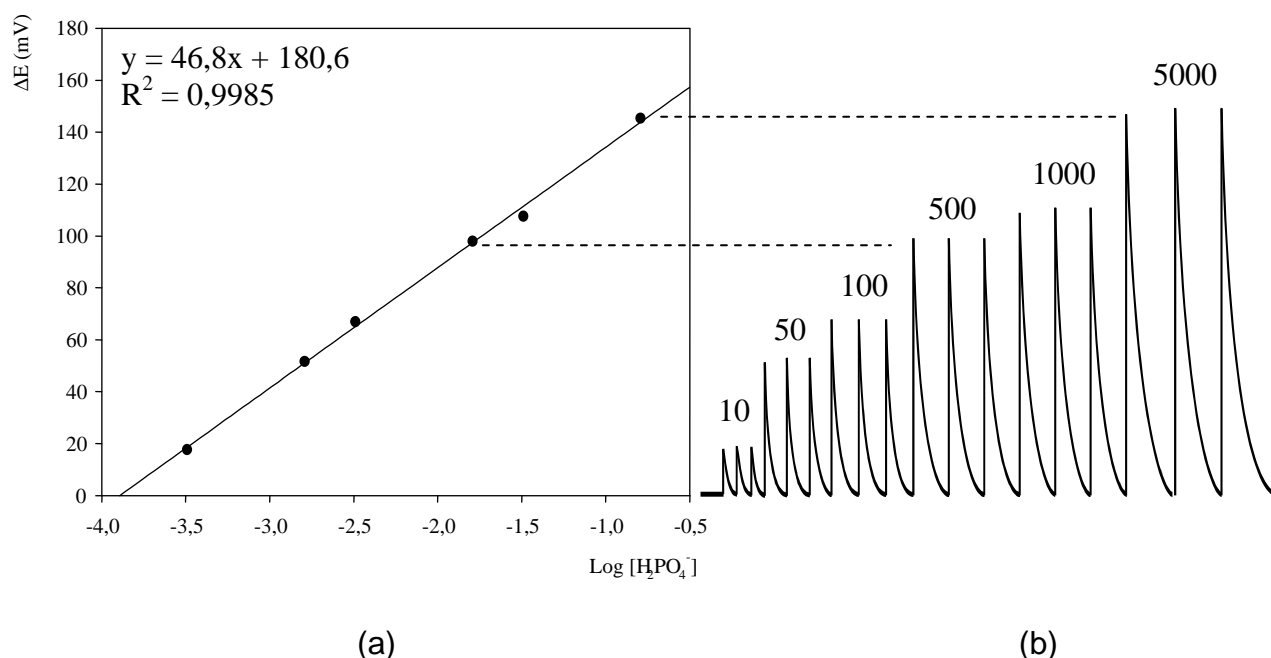


FIGURA 5.4. (a) Curva analítica obtida com as condições estabelecidas na otimização do sistema em fluxo e correlação linear obtida entre ΔE vs $\text{log} [\text{H}_2\text{PO}_4^-]$. (b) Registros potenciométricos com as respectivas concentrações em mg L^{-1} .

5.2.2 – Determinação do Fósforo Orgânico (P_{org})

Da mesma forma, a otimização do sistema de análise em fluxo para a determinação de fósforo orgânico utilizando o eletrodo de cobalto foi realizada. A molécula do ácido fítico compreende um núcleo inositol contendo 6 grupos fosfatos com 12 funções ácidas disponíveis a liberação de prótons. Dessas funções, 6 possuem um pK_a 1,8 e estão completamente dissociadas em solução, duas são fracamente ácidas, com pK_a 6,3 e as quatro restantes possuem pK_a 9,7, sendo de difícil dissociação (MATUMOTO-PINTRO, 1996). A Figura 5.5 mostra a distribuição de espécies do ácido fítico relacionada à variação de pH. Existem três regiões principais que poderiam definir a resposta do eletrodo de cobalto com relação à espécie predominante em cada pH de trabalho.

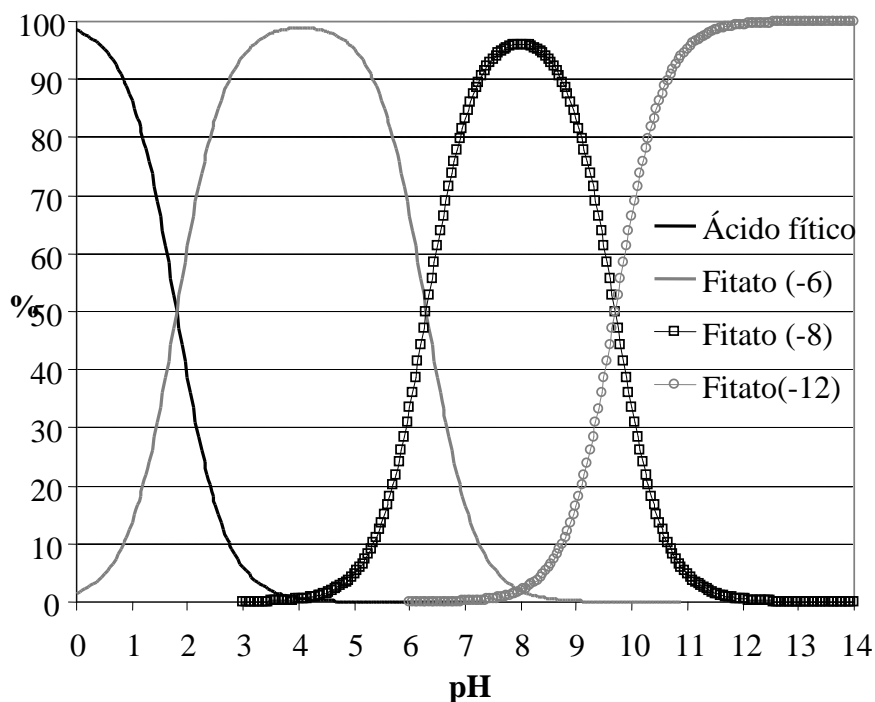


FIGURA 5.5. Distribuição de espécies do ácido fítico como função do pH.

Inicialmente, a resposta potenciométrica do ácido fítico foi examinada sob as condições estabelecidas na análise de fósforo inorgânico (tampão biftalato de potássio a pH 4). No entanto, nestas condições não há resposta do eletrodo para a variação da concentração de ácido fítico, possibilitando a análise do fósforo inorgânico sem a interferência dos compostos organofosforados naturalmente existentes nas amostras. A resposta do eletrodo foi então avaliada na faixa de pH de 8 a 11. Melhores resultados foram obtidos a pH 8. Então, a região de pH de 7 a 9 foi examinada mais detalhadamente para determinar o melhor pH no qual maiores valores absolutos de diferença de potenciais fossem obtidos. A Figura 5.6 demonstra os resultados utilizando uma solução-tampão Tris-HCl 1×10^{-2} mol L⁻¹ como solução transportadora.

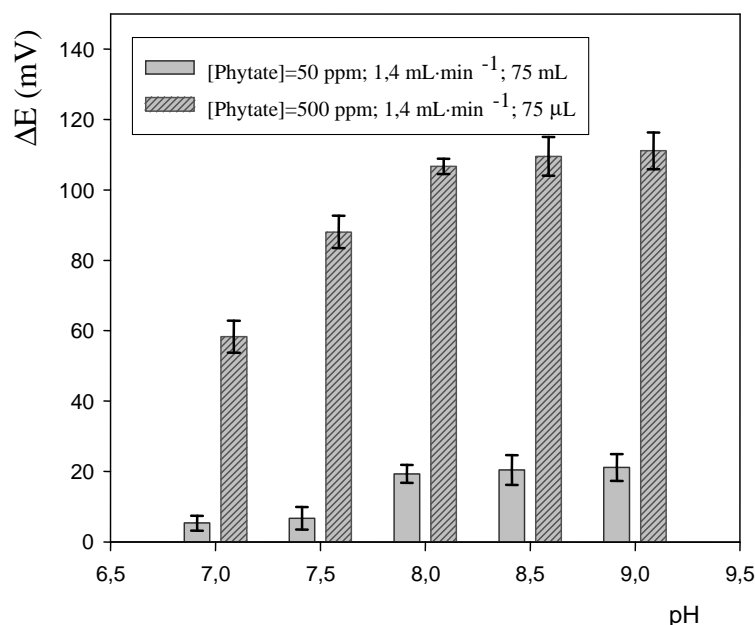


FIGURA 5.6. Otimização do sistema de análise em fluxo para a determinação do P_{org} . Efeito da variação de pH nas alturas de pico de duas soluções analíticas contendo 50 e 500 $mg L^{-1}$ de P. Volume da amostra: 75 μL ; Tampão: $1 \times 10^{-2} mol L^{-1}$ Tris-HCl pH 8; vazão: $1,4 mL min^{-1}$.

O estudo descrito acima mostra claramente a influência de cada espécie do ácido fítico na resposta do eletrodo de cobalto. As alturas de pico revelam um aumento com o aumento de pH. A um pH mais baixo, a resposta do eletrodo foi inferior devido à presença da espécie fitato(-6), a qual, não apresentou resposta potenciométrica significativa nas condições avaliadas. A pH 8, a resposta do eletrodo aumenta devido ao aparecimento da espécie fitato(-8), cuja concentração atinge seu máximo valor neste pH. A pH 8,5 ainda há um aumento devido à presença da espécie fitato(-12). Entretanto, ocorre também uma piora na precisão dos resultados. Este fato, o qual também poder ser observado no pH 9, está relacionado com a modificação da superfície do eletrodo de cobalto em pHs básicos (BADAWY et al., 2000; SIMARD e GALLANT, 2004). Assim, o pH 8 foi selecionado por proporcionar uma melhor relação entre altura de pico e repetibilidade das medidas. Além disso, a influência do fósforo inorgânico foi desprezível neste pH.

Devido à habilidade quelante do fitato, a influência da composição química do tampão na resposta do eletrodo também foi avaliada. Foram estudadas

três soluções-tampão diferentes, todas a pH 8 e com concentração $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$: Tris-HCl, EPPS-KOH e H_3BO_3 -KCl. Como se pode observar na Tabela 5.4, as características eletroanalíticas do eletrodo variam dramaticamente de acordo com o tampão. Estes resultados parecem estar relacionados com a carga efetiva das espécies fitato, a qual é modulada por sua interação com as substâncias presentes nos tampões. De acordo com os resultados previamente descritos (CREA et al., 2004), a maior sensibilidade obtida para o tampão Tris-HCl poderia ser explicada pela formação de um forte complexo fitato-amina que reduz a carga líquida do íon fitato. As soluções-tampão EPPS-KOH e H_3BO_3 -KCl, as quais não são capazes de formar este tipo de complexo, geram sensibilidades menores e regiões lineares de trabalho mais estreitas. No entanto, os íons fitato também podem formar complexos com íons potássio, presentes em diferentes níveis de concentração nos tampões mencionados. Este fato pode explicar as diferenças observadas com relação à sensibilidade do eletrodo (DE MARCO e PHAN, 2003).

TABELA 5.4. Otimização do sistema em fluxo para a determinação de fitato. Efeito da composição do tampão nas características analíticas do eletrodo. Condições: pH 8,0, vazão $1,4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ e volume da amostra $75 \mu\text{L}$.

Buffer	Limite de detecção (mg L^{-1})	Região linear de trabalho (mg L^{-1})	Sensibilidade (mV dec^{-1})
Tris-HCl	10	50 – 1000	$126,8 \pm 2,5$
EPPS-KOH	230	250 – 1000	$101,1 \pm 7,7$
H_3BO_3 -KCl	100	100 – 1000	$43,6 \pm 0,4$

Após esta etapa, a influência do volume da amostra e da vazão na resposta do eletrodo foi examinada (Figura 5.7). Utilizando o mesmo critério descrito para a otimização do sistema para fósforo inorgânico, um volume da amostra de $75 \mu\text{L}$ e uma vazão de $1,4 \text{ mL min}^{-1}$ foram escolhidos. A Figura 5.8 apresenta a curva analítica para a determinação de fitato realizada nas condições estabelecidas anteriormente. O eletrodo mostra uma sensibilidade global de 127 mV dec^{-1} . De acordo com a lei de Nernst, o fitato mostra possuir menos que a metade da carga efetiva, mais precisamente devido a interação mantida com a solução tampão. Uma faixa linear de trabalho de 10 a 1000 mg L^{-1} de P_{org} foi obtida sob as condições

experimentais estabelecidas. Tal faixa de trabalho também é adequada para as amostras avaliadas. Todo o sistema apresentou uma frequência analítica de 25 amostras por hora, a qual incluía a análise de P_i e P_{org} .

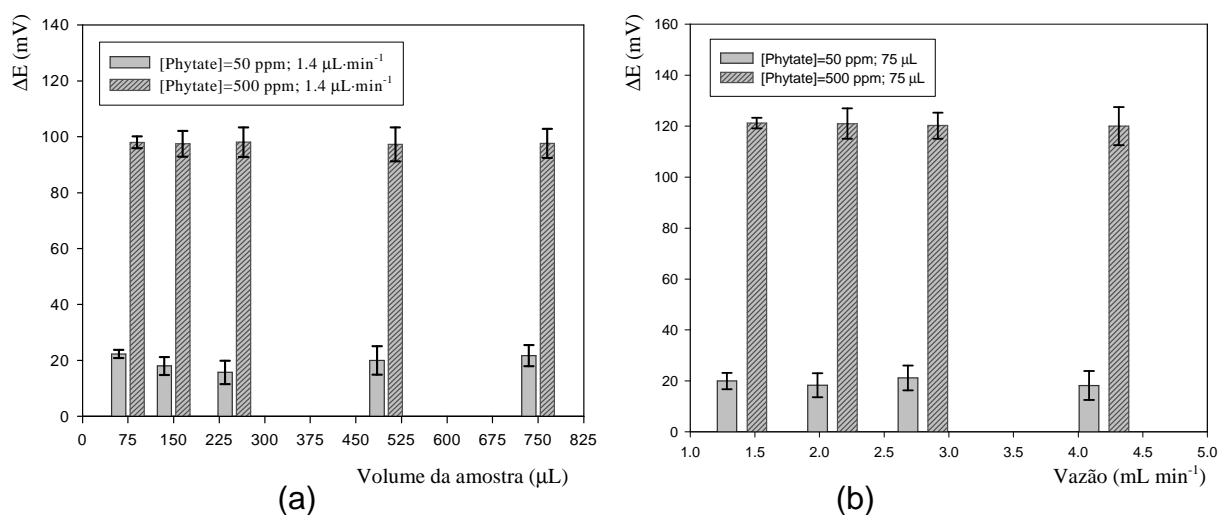


FIGURA 5.7. (a) Avaliação do volume da amostra no sistema de determinação de fitato. Condições: soluções analíticas com 50 e 500 mg L^{-1} P_{org} , tampão Tris-HCl $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e pH 8, com vazão $1,4 \text{ mL min}^{-1}$. (b) Avaliação da vazão no sistema de determinação de fitato. Condições: soluções analíticas com 50 e 500 mg L^{-1} P_{org} , tampão Tris-HCl pH 8 $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e volume da amostra 75 μL .

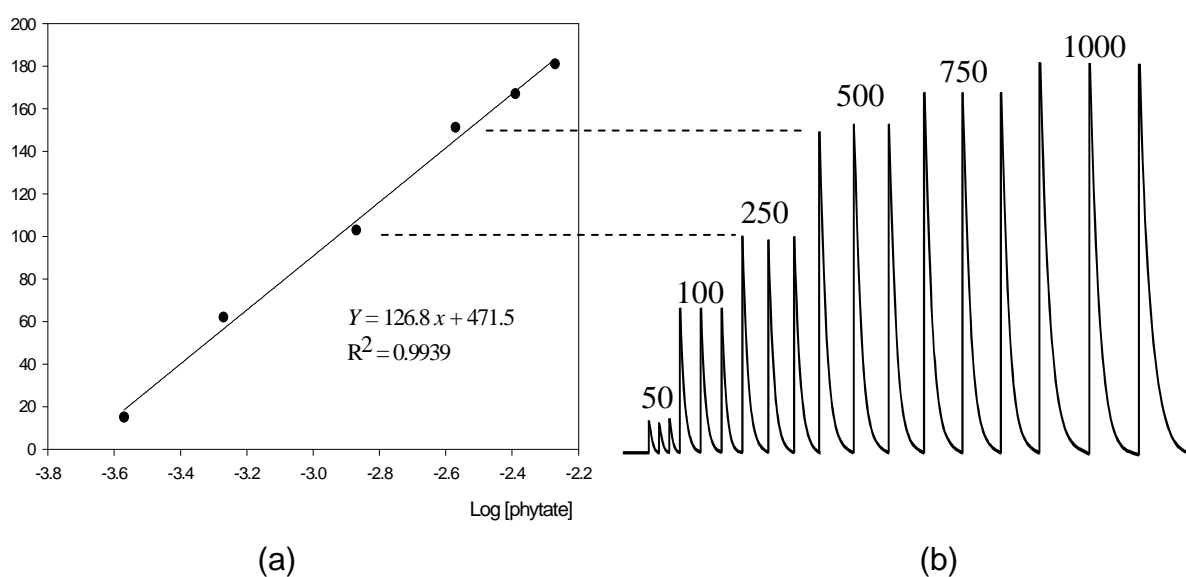


FIGURA 5.8. (a) Curva analítica para determinação de fitato obtida e correlação linear entre ΔE vs $\text{log}[\text{fitato}]$ (b) Registros potenciométricos das soluções analíticas com concentrações em mg L^{-1} .

5.2.3 – Especificação do Fósforo em Sementes e Grãos: avaliação nutricional

O sistema de análise em fluxo desenvolvido foi aplicado na avaliação das propriedades nutricionais de sementes e grãos utilizados em nutrição animal, baseada no teor de fósforo das mesmas. Os resultados obtidos foram comparados a aqueles proporcionados pelo método espectrofotométrico. Os resultados das análises de cinco amostras estão apresentados na Tabela 5.5. Não foram observadas diferenças significativas entre o método proposto e o comparativo utilizando-se um teste t a um nível de confiança de 95%.

A Tabela 5.6 também demonstra a aplicação do sistema proposto em outros tipos de amostras tais como ração para lactação animal, farelo de soja e milho. Como se pode observar, o conteúdo de fitato encontrado nas amostras está de acordo com a literatura (em torno de 80%). O sistema proposto também pôde ser aplicado para acompanhar o efeito da fertilização fosfática sobre uma cultura de milho. Pode ser observado nas duas últimas amostras que o processo de fertilização produz um aumento na proporção do fósforo inorgânico, o qual é prontamente disponível para os animais.

TABELA 5.5. Avaliação dos resultados obtidos entre o método proposto e o método comparativo.

Amostra	Fósforo Inorgânico (mg·L ⁻¹)		Fósforo Orgânico (mg·L ⁻¹)	
	Espectrofotometria	Potenciometria	Espectrofotometria	Potenciometria
1	51 ± 1	56 ± 2	258 ± 15	278 ± 20
2	70 ± 2	79 ± 4	402 ± 18	391 ± 23
3	125 ± 3	130 ± 5	785 ± 24	732 ± 29
4	148 ± 4	146 ± 6	957 ± 28	930 ± 37
5	165 ± 8	170 ± 10	964 ± 29	1001 ± 41

O método proposto para a avaliação do conteúdo de fósforo se mostrou simples na sua construção quanto na execução, desde o procedimento de extração até a etapa de detecção. Dentro dos objetivos almejados para a melhora da seqüência analítica, obteve-se a simplificação/diminuição da etapa de medida, com

exatidão, rapidez e menor custo em comparação aos métodos tradicionais de análise.

TABELA 5.6. Avaliação nutricional de grãos e sementes utilizando o sistema de análise em fluxo proposto.

Amostra	P _{org} (mg·L ⁻¹)	P _i (mg·L ⁻¹)	Total P (mg·L ⁻¹)	P _{org} (%)	P _i (%)
Ração para lactação	276	78	354	77,9	22,1
Farelo de soja	471	69	540	87,1	12,9
Milho sem fertilização	166	25	191	86,7	13,3
Milho com fertilização	166	51	217	76,5	23,5

5.3 – Análise de Solos “In Situ”: desenvolvimento e aplicação de um protótipo empregando sensores eletroquímicos no estudo da variabilidade de nutrientes no solo

5.3.1 – Nitrato (NO₃⁻)

Todo o estudo do nitrato correspondente a esta seção foi realizado com o primeiro protótipo da sonda analítica, utilizando sensores serigráficos. Entretanto, as mesmas discussões e conclusões tomadas nesta etapa também podem ser consideradas para as sondas subseqüentes. Na seção que trata do desenvolvimento da sonda NPK, o nitrato será monitorado novamente, bem como o amônio, porém utilizando os sensores de configuração convencional.

Inicialmente, foi realizada uma avaliação do comportamento da resposta dos sensores, sem a presença do solo. O experimento foi feito sob a aplicação de algodões umedecidos com soluções de nitrato de diferentes concentrações, de forma que o algodão cobrisse a região dos eletrodos de referência e trabalho ao mesmo tempo. O gráfico da Figura 5.9 mostra a evolução do potencial frente à mudança de concentração imposta. Observa-se que os três sensores possuem comportamentos semelhantes, com a diminuição de potencial proporcionada pelo aumento da concentração de nitrato e vice-versa, permitindo concluir que todos

responderam de acordo com o esperado. Entretanto, observa-se uma menor sensibilidade para o sensor a 60 cm devido à retirada ineficiente do nitrato da superfície do mesmo pelo algodão umedecido com água.

Foi dado prosseguimento à experimentação da sonda com a avaliação do comportamento da mesma quando inserida no solo. Nessa etapa de avaliação, o solo utilizado possuía composição desconhecida e é normalmente encontrado em casas de jardinagem, denominado como terra vegetal. Sendo assim, a sonda foi introduzida no interior do tubo PVC preenchido com o solo até que o mesmo cobrisse o primeiro sensor de forma a se obter uma altura de aproximadamente 15 cm entre a superfície do solo e o sensor. Durante o preenchimento, ao solo foi adicionado excesso de água para permitir um melhor assentamento do mesmo e eliminar os interstícios vazios entre as partículas do solo, melhorando assim a dinâmica da fase líquida do solo e a movimentação dos íons dentro dela.

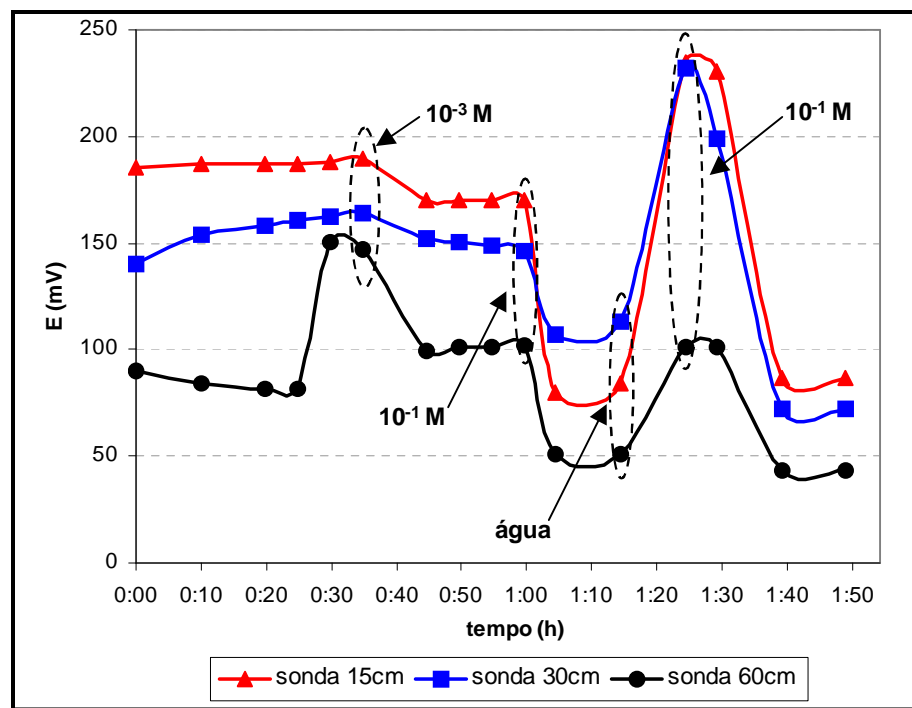


FIGURA 5.9. Comportamento dos sensores “screen-printing” frente à variação da concentração de nitrato. As regiões demarcadas representam o instante em que a concentração foi variada e que solução foi adicionada diretamente sobre cada sensor.

Nas Figuras 5.10 e 5.11 são apresentados os gráficos que representam a evolução do potencial nos sensores a 15 e 60 cm, respectivamente. Verifica-se que

os sensores respondem satisfatoriamente frente à variação de nitrato. Também foram realizadas análises da quantidade de nitrato presente no solo em paralelo com a evolução do potencial nos experimentos (Tabela 5.7). Durante um período de 36 horas, variações na concentração de nitrato foram impostas e amostras foram tomadas simultaneamente a cada altura correspondente aos sensores, sendo os teores de nitrato dessas amostras determinados por método padrão (método de Berthelot adaptado em fluxo, como descrito em seção anterior).

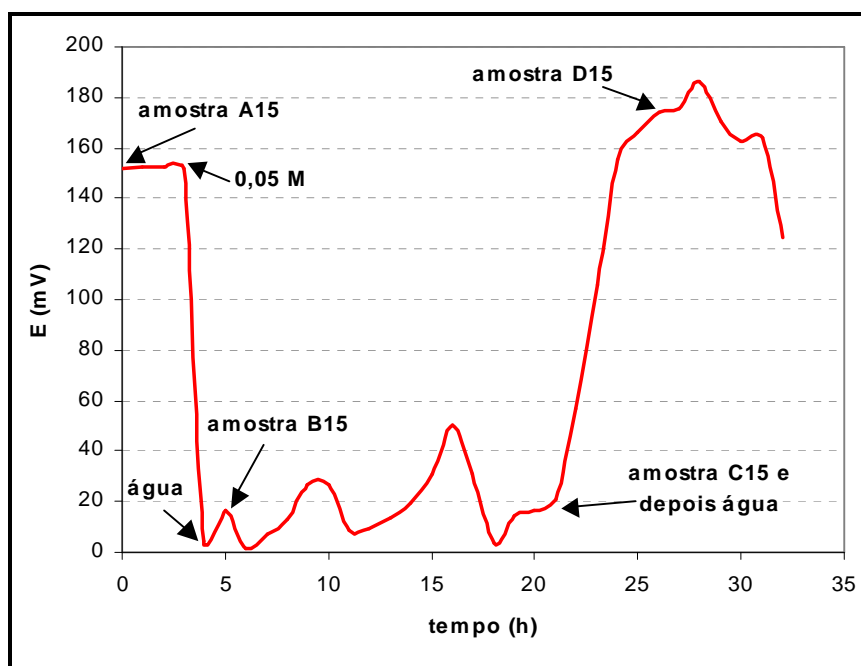


FIGURA 5.10. Evolução do potencial do sensor “screen-printing” a 15 cm com as adições de nitrato sobre o perfil do solo. As setas mostram em qual etapa as amostras (A15, B15, C15 e D15) foram obtidas.

TABELA 5.7. Resultados obtidos para a análise de nitrato nas amostras tomadas durante a avaliação da sonda.

Amostras/profundidade (cm)	NO ₃ ⁻ (mg / kg solo)		
	15	30	60
A	12,9	24,1	76,1
B	184,3	148,1	51,8
C	138,9	153,0	106,2
D	5,4	100,5	106,2

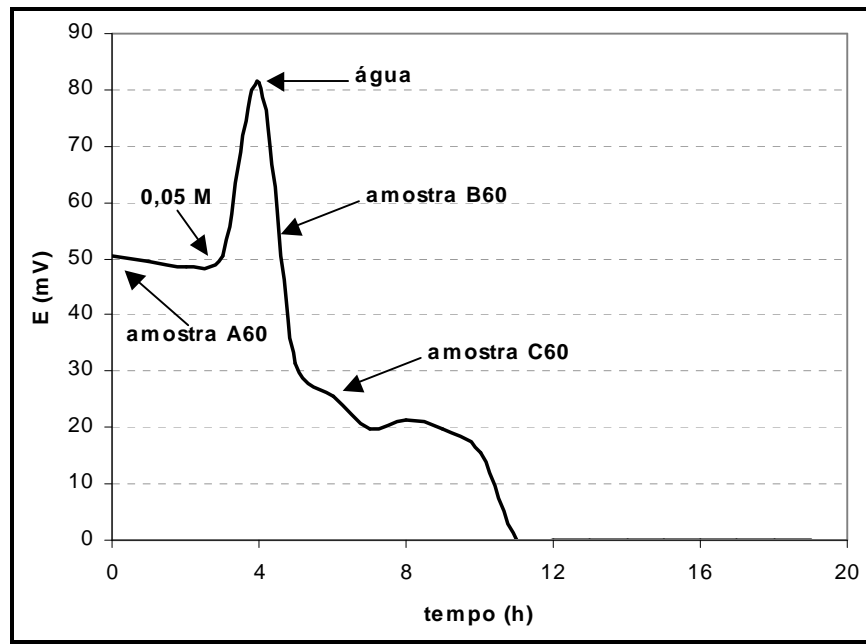


FIGURA 5.11. Evolução do potencial do sensor “screen-printing” a 60 cm com as adições de nitrato sobre o perfil do solo. As setas mostram em qual etapa as amostras (A60, B60 e C60) foram obtidas.

A evolução dos nitratos neste tipo de solo em relação ao momento de coleta pode ser observada na Tabela 5.7. No momento em que as concentrações aumentam nas regiões dos sensores a 15 e 30 cm, há uma diminuição da concentração na região do sensor a 60 cm (Figura 5.12). Isso se explica pelo fato do nitrato, apesar de ser um íon de fácil lixiviação, ficar retido nas camadas superiores do solo, deixando com que a água (solvente) desça às camadas inferiores. Na Figura 5.12 pode ser observado um aumento progressivo na concentração de nitrato na região do sensor a 60 cm enquanto há uma diminuição nas regiões dos sensores a 15 e 30 cm. Este fato ocorreu após a adição de água ao solo, causando a lixiviação dos nitratos da camada superior à camada inferior, onde se encontrava o sensor (60 cm).

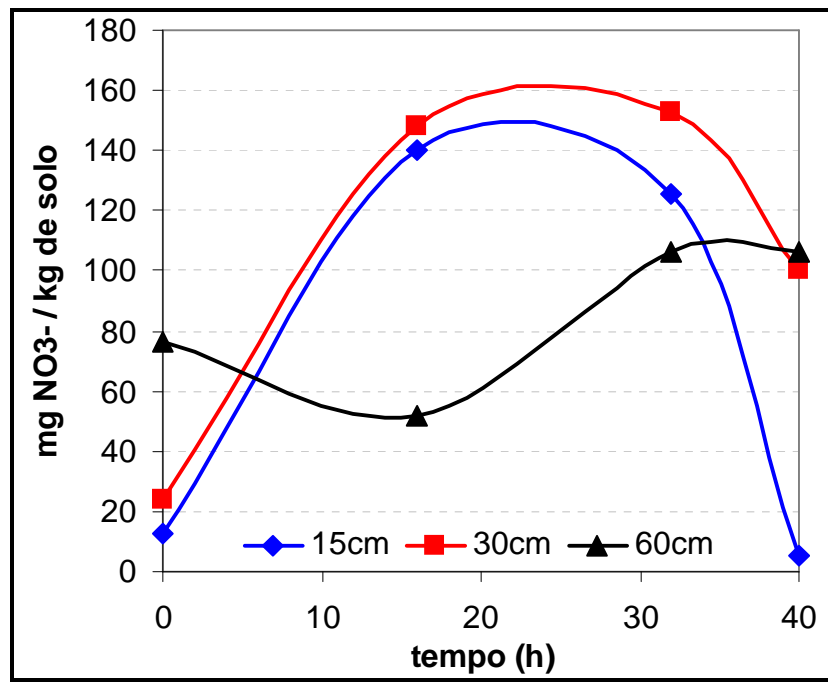


FIGURA 5.12. Evolução do nitrato no solo a partir das amostras tomadas durante o experimento.

De posse dessas observações, a próxima etapa seria a definição de um procedimento de calibração desta sonda para a posterior aplicação da mesma diretamente no solo. Uma possibilidade seria a calibração dos sensores através dos tubos inseridos no corpo da sonda, dispondo soluções de concentração conhecida do analito e relacionando o potencial obtido com a concentração imposta, da mesma forma como havia sido feito para os testes qualitativos anteriores. Porém, sabe-se que este tipo de detector (potenciométrico) tem como característica respostas diferentes em regiões diferentes de concentração, ou seja, uma região não-linear (geralmente em concentrações abaixo de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e acima de $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$) e uma linear. Esta região linear pode ser modelada, porém o mesmo não pode ser feito para as regiões não-lineares, o que possibilitaria um erro muito grande em leituras realizadas nessas faixas de concentração.

Alternativa seria a modificação da concentração do analito no solo pela utilização de padrões externamente à sonda, adicionados sobre o perfil do solo e aguardando que o solo realizasse a distribuição e o equilíbrio entre as várias regiões (alturas) dos sensores, também da mesma forma como estava sendo feito para os testes qualitativos anteriores, sendo que, após a estabilização do sinal, amostras seriam tomadas em cada altura dos sensores, com a concentração de nitrato

determinada por um método padrão e esta concentração seria relacionada com o potencial obtido. Porém esse método apresenta-se ainda mais problemático, condicionado tanto à execução do mesmo, por ser mais trabalhoso e consumir tempo em demasia, quanto à modelagem da curva de calibração, como descrito anteriormente.

Tem-se como variáveis a serem avaliadas e monitoradas durante a construção do conjunto de calibração as seguintes: tipo de solo, umidade do solo e temperatura. Dentre estes a temperatura não será controlada, mas apenas monitorada por um sensor de temperatura adaptado à sonda. A avaliação da influência da umidade sobre a resposta do sensor foi realizada com o auxílio de um planejamento fatorial completo incluindo as variáveis umidade gravimétrica do solo, concentração de nitrato e altura do sensor variando em dois níveis.

A Figura 5.13 demonstra o resultado dessa avaliação através de um gráfico de Pareto. Esse tipo de gráfico mostra cada efeito estimado em ordem decrescente de magnitude. O comprimento de cada barra é proporcional ao efeito padronizado, ou seja, o efeito estimado dividido pelo erro padrão. Esse teste equivale a um teste t para cada efeito. A linha vertical pode ser usada para julgar quais efeitos são estatisticamente significantes. Assim, qualquer barra que se estenda além da linha corresponde a dizer que o efeito representado por esta barra é estatisticamente significativo a um nível de confiança de 95%. No caso da Figura 5.13, somente a umidade e a interação desta com a concentração de nitrato são estatisticamente significantes na resposta do sensor de nitrato.

É de se estranhar que em um sensor sensível a nitrato, a variação da concentração de nitrogênio não seja por si própria significativa na resposta desse sensor. Entretanto, não devemos esquecer que estamos trabalhando em uma matriz descontínua como o solo onde a mobilidade dos íons em seu interior é extremamente dependente do teor de umidade volumétrica disponível. Como a detecção nesse tipo de sensor é relativamente dependente do contato do elemento de interesse com a superfície do mesmo, esse contato é prejudicado em sua eficiência quando da inserção desse tipo de sensor no solo. Dessa forma, a quantidade de umidade presente influencia nos processos de transporte dos analitos em direção ao sensor, influenciando negativamente em casos de umidade muito baixa, ou seja, com umidade abaixo de 6% o sensor não “enxerga” o analito de interesse, apresentando sinal transiente com bastante ruídos e sem estabilização.

Por outro lado, com valores de umidade acima 30%, a resposta do sensor se assemelha à resposta em condições de solução aquosa, ou seja, como se o solo não estivesse presente.

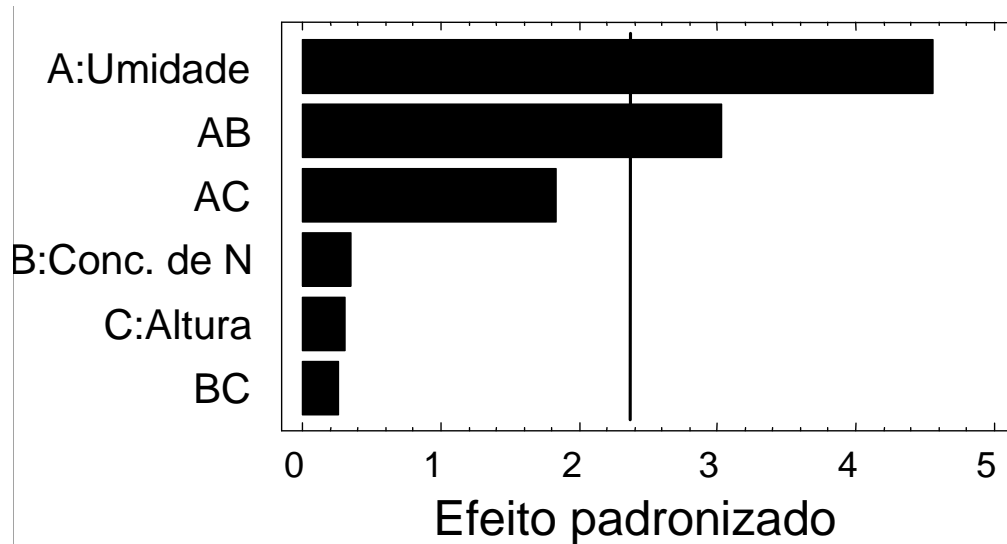


FIGURA 5.13. Gráfico de Pareto para avaliação de variáveis de significância estatística na resposta do sensor de nitrato a um nível de confiança de 95%. A = umidade; B = concentração de nitrogênio em mg L^{-1} ; C = altura; AB = interação entre as variáveis A e B; AC = interação entre as variáveis A e C; AD = interação entre as variáveis A e D.

Uma tentativa de correlação entre os valores de potenciais obtidos com a concentração de nitrato determinada pelo sistema de análise em fluxo, para as amostras coletadas durante a avaliação da umidade na resposta do sensor, ratifica as considerações feitas anteriormente. Na Figura 5.14 observa-se uma clara influência da umidade, gerando dois grupos de amostras dependentes do teor de umidade gravimétrica presentes nas mesmas. Observa-se que para uma mesma concentração de nitrato existente no solo, a sonda analítica pode gerar dois potenciais diferentes e relacionados com o teor de umidade. Para valores de umidade mais baixos obtêm-se potenciais mais baixos, contrariamente ao que ocorre em maiores teores de umidade.

Em vista da influência que a umidade exerce sobre a resposta do sensor, verificou-se a necessidade de um monitoramento mais contínuo em substituição ao que vinha sendo feito até então, com a determinação da umidade através da diferença de peso entre a amostra úmida e a amostra seca, ou seja, umidade

gravimétrica. Com a possibilidade de monitorar a variável umidade, minimizava-se o esforço e o desperdício de tempo, maximizando a confiabilidade nos dados gerados. Em vista disso, recorreu-se à utilização de uma técnica de medida indireta deste parâmetro que fosse rápida, confiável e que possibilitasse a confecção de um sensor com a configuração e características desejadas. Então, optou-se por utilizar a refletometria no domínio do tempo (TDR), por suprir tais necessidades de forma satisfatória.

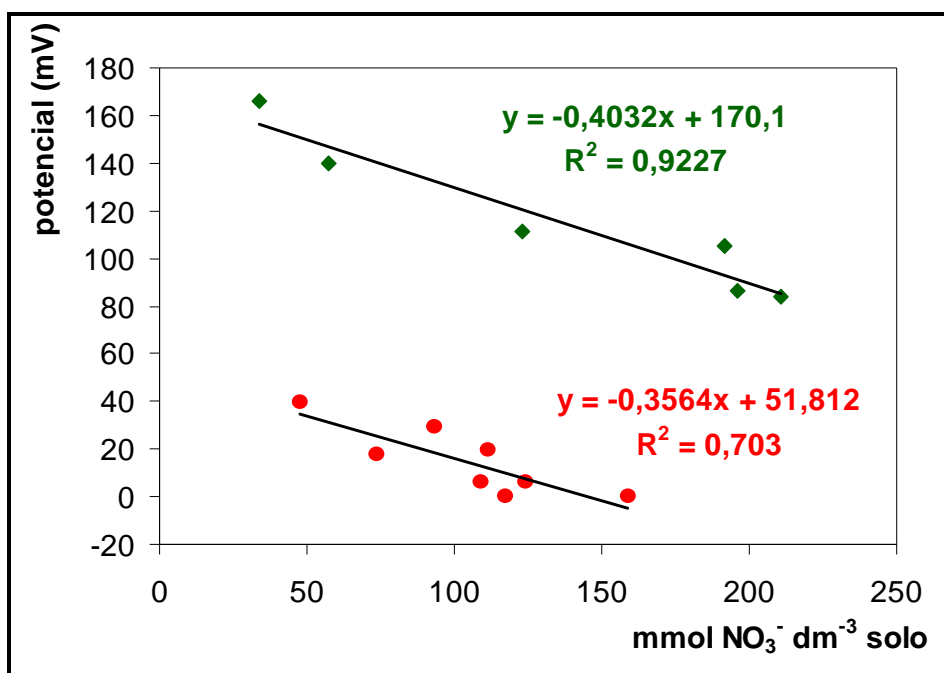


FIGURA 5.14. Gráfico da relação entre a concentração de nitrato e potencial obtido pela sonda analítica. Em **vermelho**: 3 a 19% de umidade; em **verde**: 20 a 27% de umidade.

5.3.2 – Potássio (K⁺)

Antes da avaliação da sonda diretamente no solo, foi realizada uma avaliação da membrana para o estabelecimento de parâmetros em função das características eletroanalíticas pertencentes a esse tipo de eletrodo. A utilização de algodão umedecido com soluções analíticas de potássio nas concentrações 1×10^{-5} a 1×10^{-1} mol L⁻¹ de K foi efetuada com o propósito de reproduzir as condições de operação do eletrodo no solo de maneira aproximada. Neste experimento foram

avaliados a sensibilidade, a faixa linear de trabalho e o limite de detecção de cada membrana depositada.

Com o objetivo de verificar a eficácia no funcionamento das membranas depositadas, uma avaliação dos parâmetros eletroanalíticos era realizada a cada deposição pela calibração com a utilização de algodões umedecidos com soluções padrão de KCl. Os sensores apresentaram sensibilidade média de 70 mV dec^{-1} , o que representa um comportamento superernstiano que pode ser atribuído às características da forma de calibração empregada. Na Figura 5.15 tem-se o gráfico de uma dessas calibrações. Os sensores apresentaram ainda faixa linear de trabalho definida entre 1×10^{-4} e $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, podendo chegar até $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, e limite de detecção da ordem de $8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

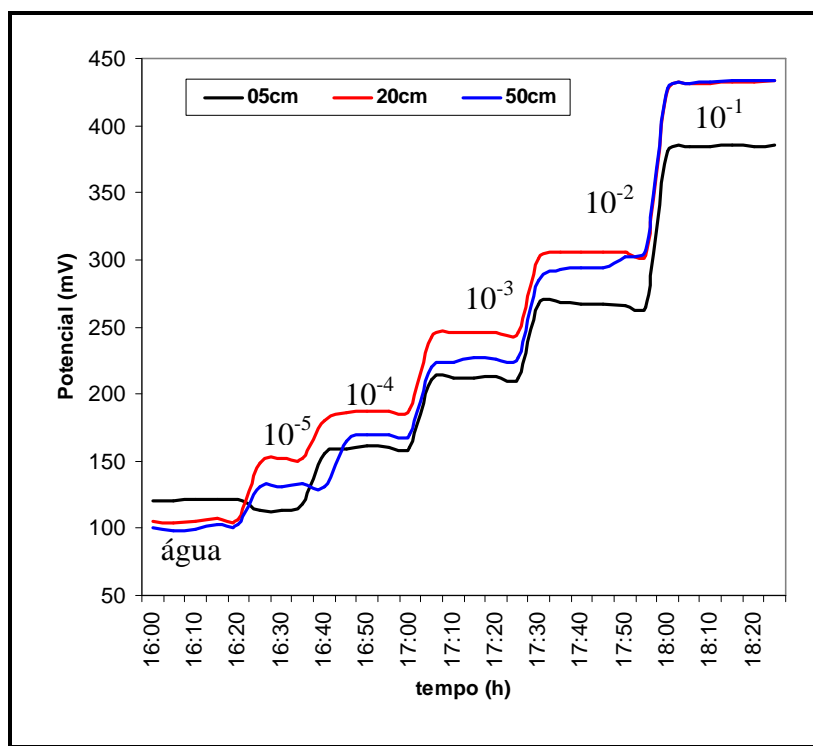


FIGURA 5.15. Evolução dos potenciais pela calibração com algodões umedecidos com solução dos analitos de concentração conhecida.

Na Figura 5.16 tem-se uma demonstração da evolução dos potenciais frente a variação da concentração de potássio com a adição de uma solução de KCl 1 mol L^{-1} . Inicialmente, os sensores apresentam um valor constante de potencial. Depois da adição da solução, podem ser observadas três curvas de potencial diferentes. No sensor a 5 cm de profundidade, um salto abrupto de potencial é

observado (aproximadamente 350 mV) sem retorno para a linha de base inicial. Um salto semelhante, porém mais suave (aproximadamente 250 mV) foi sofrido pelo sensor a 20 cm de profundidade. Era esperado um perfil mais largo para este sensor, entretanto a concentração da solução adicionada foi muito alta, saturando a área do sensor a 5 cm; conseqüentemente quase a mesma quantidade de potássio foi lixiviada ao sensor de 20 cm. A 50 cm, a curva obtida tem um salto de potencial mais baixo (aproximadamente 80 mV) e um perfil mais largo devido à diluição da solução.

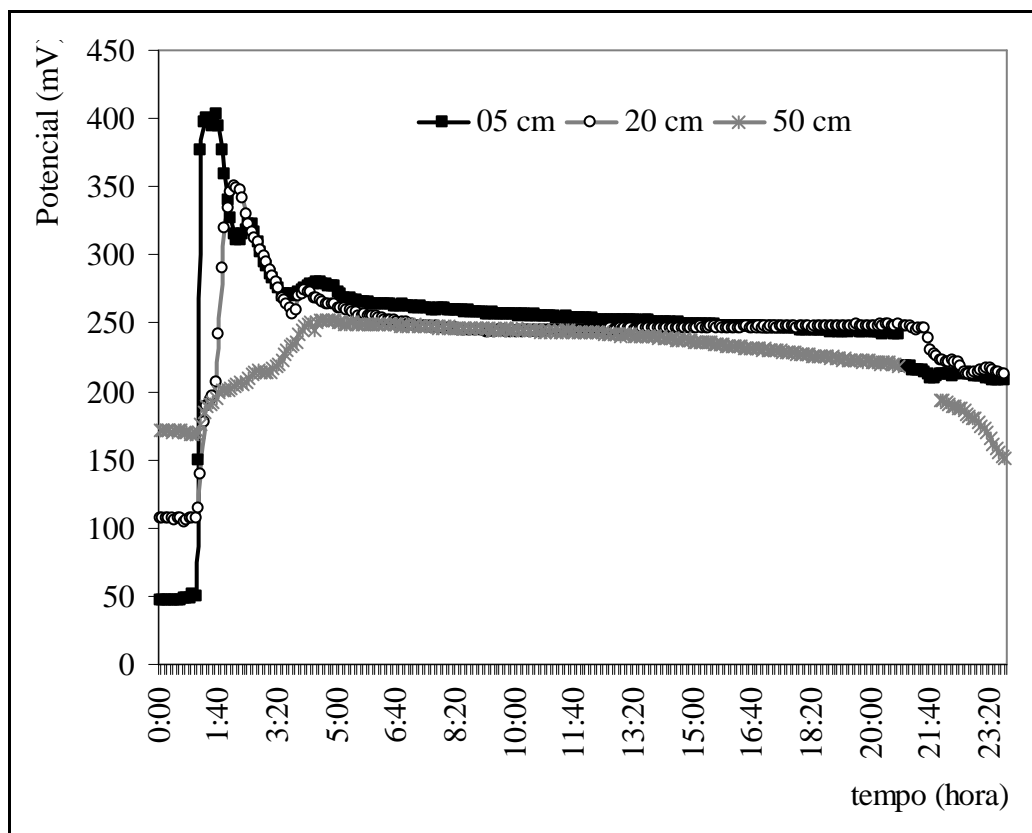


FIGURA 5.16. Evolução dos potenciais frente a variação com adição de uma solução 1 mol L^{-1} de KCl sobre o solo.

Foram realizadas algumas amostragens em diferentes momentos do experimento e os resultados obtidos pelo método padrão foram usados em comparação aos respectivos potenciais tomados. As Figuras 5.17 e 5.18 demonstram os registros dos potenciais e os resultados das análises pontuais via fotometria de chama para os sensores a 5 e 20 cm, respectivamente. Uma concordância satisfatória foi observada entre as duas metodologias, a qual está

demonstrada na Tabela 5.8 e, que pode ser utilizada como uma forma de calibração dos sensores no solo.

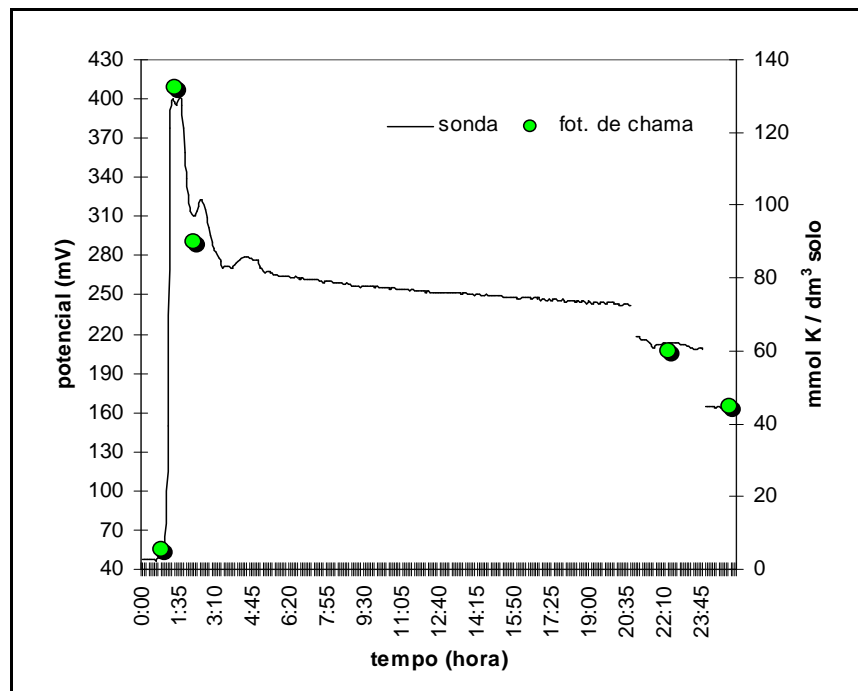


FIGURA 5.17. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de K no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 5 cm de profundidade.

TABELA 5.8. Equações lineares obtidas entre a metodologia comparativa e a sonda analítica.

Sensor	Equações	r^2
5 cm	$mV = 2,7965 \cdot FC + 40,804$	0,9925
20 cm	$mV = 3,0492 \cdot FC + 83,692$	0,9951

FC: fotometria de chama ($mmol K dm^{-3}$ solo)

Um novo experimento foi realizado para simular uma condição de campo pela adição de uma quantidade conhecida de fertilizante potássico (KCl) sobre o solo ($127 g m^{-3}$ de KCl correspondendo a aproximadamente $150 kg K_2O ha^{-1}$). Na Figura 5.19 têm-se os perfis do solo antes e após a adição do fertilizante. Pode-se observar o claro comportamento da lixiviação do potássio nesse estudo. Em primeiro lugar há um grande salto de potencial no sensor a 5 cm, indicando a presença do

potássio nessa região. Minutos depois, com adições sucessivas de água, pode-se observar a chegada do potássio no sensor a 20 cm, porém com um salto de potencial menor, enquanto a concentração de potássio no sensor a 5 cm já chegou a um máximo e já está retornando à quantidade inicial pelo retorno à linha base expresso no gráfico. Aproximadamente duas horas depois, o potássio lixiviado chega à região do sensor a 50 cm, porém em menor quantidade, e com uma banda de potencial mais larga, causada pela dispersão na coluna de solo.

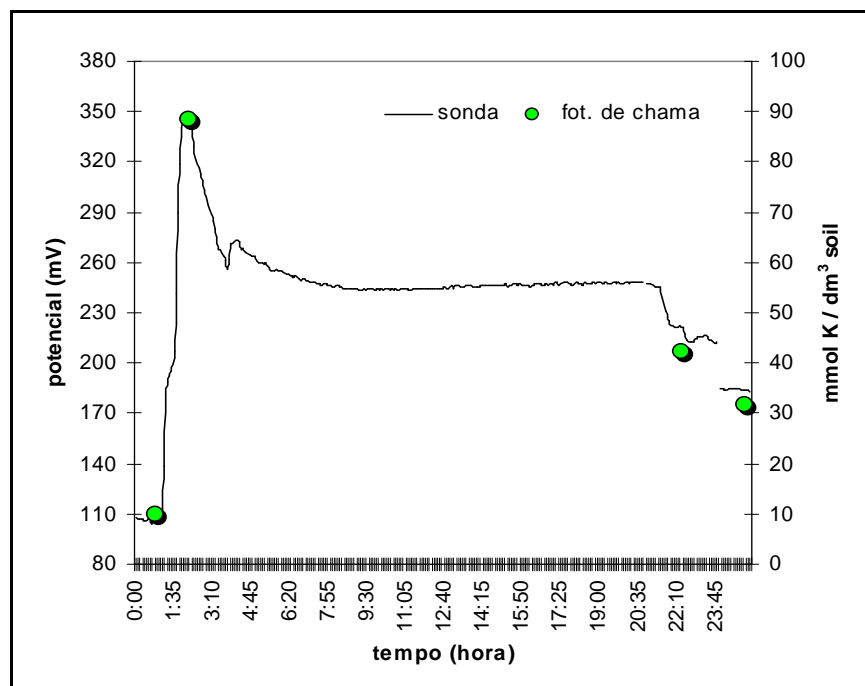


FIGURA 5.18. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de K no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 20 cm de profundidade.

Deve-se salientar que todos os experimentos descritos anteriormente foram realizados em condições de saturação da umidade, ou seja, em capacidade de campo. Sabe-se de experimentos anteriores que os mesmos não podem ser extrapolados para solo com teores de umidade menores, visto que a umidade é um parâmetro de grande influência no comportamento dos íons do solo e, por consequência, na resposta dos sensores.

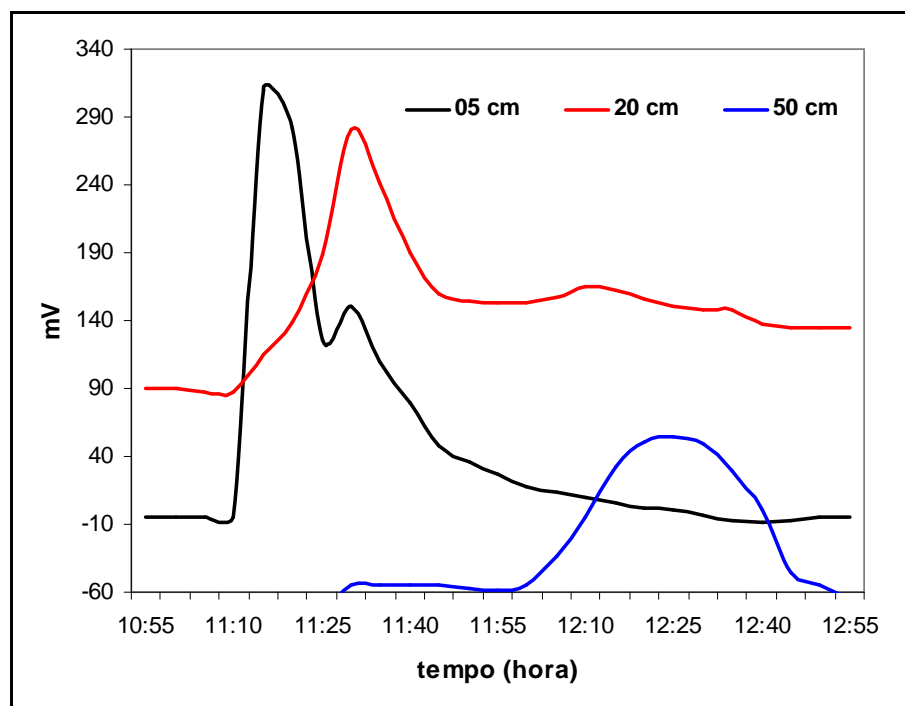


FIGURA 5.19. Evolução dos potenciais frente à adição de fertilizante potássico e adições sucessivas de água.

5.3.3 – pH

Com o objetivo de se verificar a eficácia das membranas depositadas antes da utilização da sonda no solo, uma avaliação dos parâmetros eletroanalíticos era realizada pela utilização de algodões embebidos em soluções analíticas. Foram utilizados tampões de fosfato ($1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), com valores de pH variando entre 3 e 10, pois se sabe da literatura (SCHULTESS et al., 1981) que essa formulação de membrana possui faixa linear de trabalho de pH 2 a 12. Além disso, em solos não há uma variação dessa propriedade que necessite de uma faixa maior de trabalho. Na Figura 5.20 estão demonstradas algumas curvas analíticas para os sensores. As equações gerais das curvas analíticas obtidas foram: (a) 5 cm: $E = -45,4 \cdot \text{pH} (\pm 0,1) + 570 (\pm 1)$; (b) 20 cm: $E = -42,5 \cdot \text{pH} (\pm 0,1) + 507 (\pm 0,7)$ e (c) 50 cm: $E = -40,4 \cdot \text{pH} (\pm 0,1) + 560 (\pm 1)$. Observa-se um comportamento similar entre os três sensores. Apesar disso, a sensibilidade nernstiana não foi alcançada devido às condições de experimentação serem diferentes das condições de análise geralmente empregadas. Entretanto, isso não afeta em nada a aplicabilidade analítica das membranas.

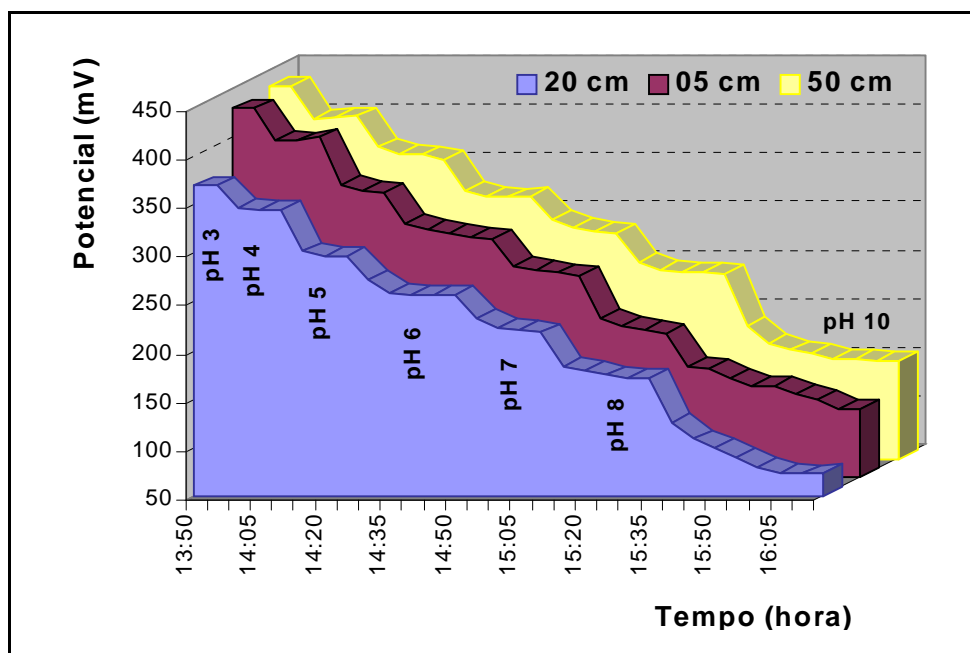


FIGURA 5.20. Calibração com algodões umedecidos para a análise de pH.

Com a sonda instalada no tubo PVC preenchido com solo, foram realizadas calibrações com a adição das soluções-tampão através dos tubos de silicone e os perfis dos potenciais adquiridos eram semelhantes aos potenciais observados quando da calibração realizada externamente com o auxílio dos algodões umedecidos. Porém, as sensibilidades obtidas foram muito menores que as para a calibração com os algodões. As equações gerais obtidas para as curvas analíticas foram: (a) 5 cm: $E = -26,8 \cdot \text{pH} (\pm 0,6) + 468 (\pm 51)$, (b) 20 cm: $E = -26,5 \cdot \text{pH} (\pm 6,4) + 407 (\pm 41)$ e (c) 50 cm: $E = -24,2 \cdot \text{pH} (\pm 7,7) + 480 (\pm 68)$. O decréscimo da sensibilidade pode ser explicado devido a uma característica inerente ao solo de se comportar como um forte tampão. Mais uma vez, entretanto, isso não afeta em nada a aplicabilidade analítica das membranas.

Após a obtenção das curvas analíticas para os sensores, a sonda foi retirada do tubo de PVC preenchido com solo, foram depositadas novas membranas e a sonda foi reinserida no tubo preenchido com solo para a avaliação do comportamento da sonda frente à adição de corretivos de pH. Primeiramente, foram adicionados 25 mL de uma solução concentrada de ácido sulfúrico (50% v/v) para simular uma correção ácida. Na Figura 5.21, tem-se a evolução dos potenciais dos sensores frente à adição de ácido.

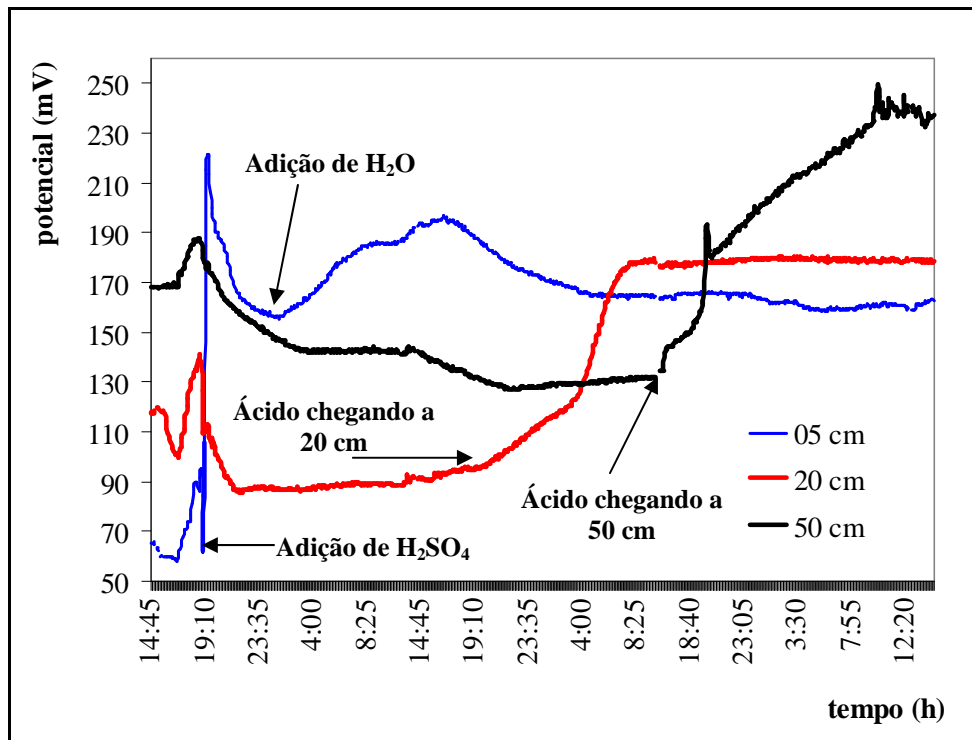


FIGURA 5.21. Evolução dos potenciais frente à mudança de pH no solo.

Observa-se um salto abrupto em torno de 130 mV no sensor a 5 cm, indicando um aumento na concentração hidrogeniônica naquela região, ou seja, uma diminuição do pH. Após a estabilização do sinal, água em excesso foi despejada sobre o perfil do solo para fazer com que o ácido percolasse para as camadas inferiores. Assim, iniciou-se um decréscimo da concentração de H^+ e um ligeiro aumento de pH. Enquanto isso, o ácido em excesso chega à região do sensor de 20 cm fazendo com o potencial atinja um valor aproximado de 130 mV.

Entretanto, após a chegada desse excesso o pH começa a cair pela adição de água sobre o perfil do solo, fazendo com que a troca iônica (íons H^+ por íons básicos) realizada na região a 5 cm de profundidade chegue ao sensor a 20 cm. Nesse ponto o potencial chega a 90 mV e se mantém até que lentamente todo o excesso de ácido sulfúrico despejado e que não foi trocado na camada de 5 cm vai chegando à camada de 20 cm, aumentando o potencial e diminuindo o pH, como observado no gráfico. Na camada a 50 cm ocorre o mesmo, porém com maior intensidade, ou seja, a diminuição de pH é mais intensa (aproximadamente 70 mV), antes de o potencial subir novamente indicando a chegada do ácido em excesso depositado no topo da coluna e lixiviado pelas adições sucessivas de água.

Na Figura 5.22 estão demonstrados diferentes perfis de potenciais gerados pelo sistema sensor, assim como as análises pontuais do pH, realizada com eletrodo combinado de vidro, usando duas metodologias distintas de extração: extração com água destilada e extração com uma solução de CaCl_2 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Observa-se uma concordância maior entre os resultados com o procedimento de extração que implica o uso do CaCl_2 .

Ao se utilizar um meio extrator de alta força iônica, permite-se à minimização da solubilização de sais que fazem com que o pH do meio seja superior ao real. Cabe destacar que a extração com CaCl_2 apresenta valores de pH inferiores aos determinados com água da ordem de 0,5 a 1 unidade de pH. Desta forma, pode-se afirmar que o conjunto de sensores foi eficiente na detecção da variação da acidez do solo com o método de extração por CaCl_2 .

Pode-se observar que a concentração da solução de ácido sulfúrico utilizada foi muito alta, uma vez que o solo na região a 5 cm atingiu valores de pH muito baixos, fazendo com que o sensor trabalhasse na região limite da faixa de trabalho de pH, sujeito a erros. Ainda assim, houve uma concordância razoável entre os métodos para essa profundidade. Nas outras profundidades houve uma concordância muito boa entre os dois métodos. Entretanto, se os dados de potencial são colocados versus os resultados de pH, obtêm-se características diferentes para os três sensores estudados.

Para o sensor a 5 cm obteve-se uma sensibilidade menor ($y = -28,759x + 232,82$, $R^2 = 0,8063$), enquanto que para o sensor a 20 cm obteve-se uma sensibilidade semelhante à da calibração externa com algodões ($y = -41,72x + 309,56$, $R^2 = 0,9734$) e para o sensor a 50 cm uma sensibilidade superernstiana ($y = -162,64x + 996,36$, $R^2 = 0,9992$). Possivelmente essa última seja a sensibilidade característica desse sensor no solo, uma vez que o sensor a 20 cm ainda sofre grande influência do excesso de ácido adicionado à coluna, ou os mecanismos de troca são diferenciados a cada profundidade. Ou seja, os níveis superficiais do solo possuem uma maior capacidade tamponadora que diminui em função da altura, fazendo com os valores de sensibilidade aumentem com esta variável.

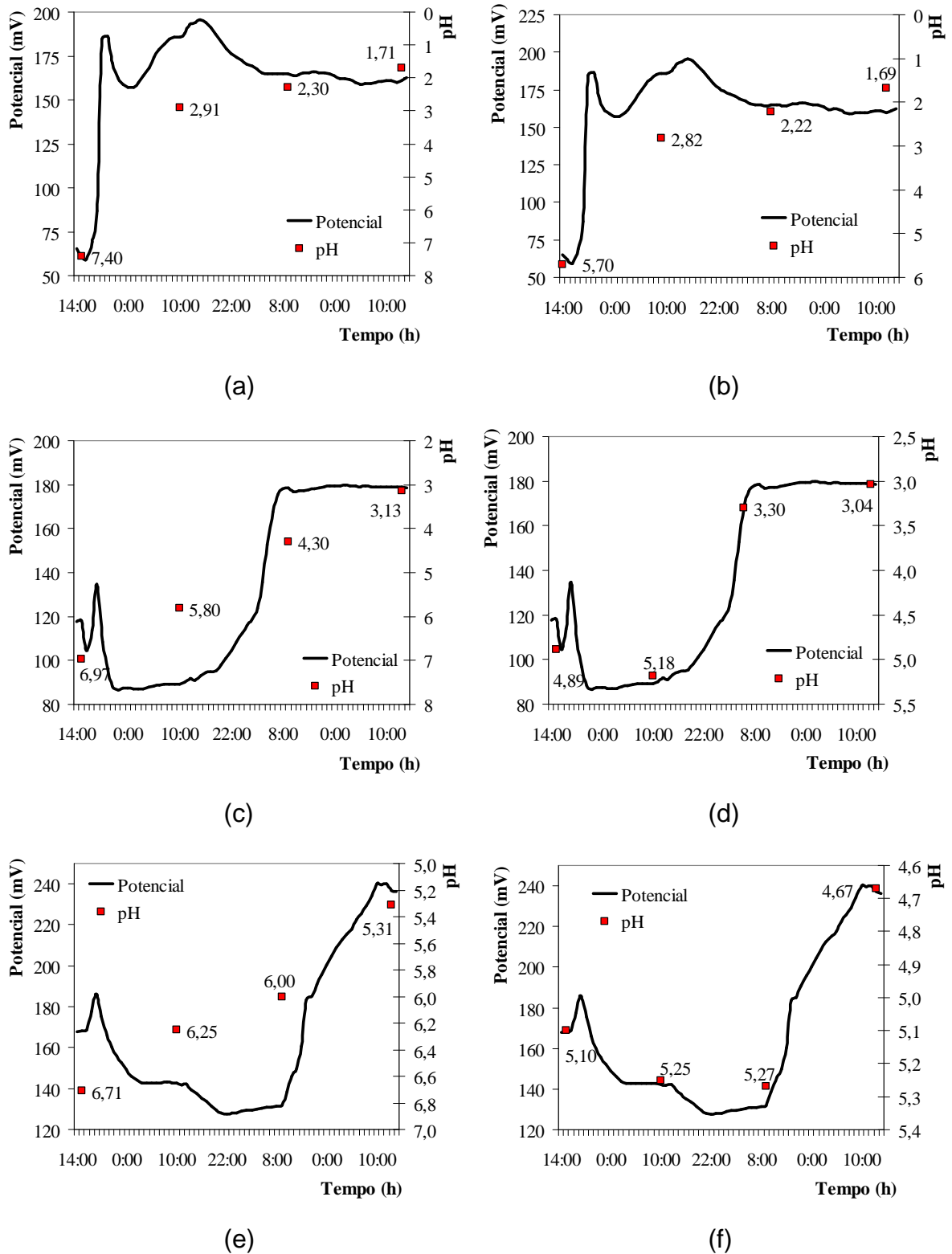


FIGURA 5.22. Perfis de potencial gerados pelos sensores e comparação com método de análise do pH em solo. (a), (c) e (e): sensores a 5, 20 e 50 cm, respectivamente e extração com água. (b), (d) e (f): sensores a 5, 20 e 50 cm, respectivamente e extração com solução CaCl₂.

Também foi realizada uma tentativa de correção básica do solo, situação mais comum no Brasil, com a aplicação de CaCO_3 e o estudo de seu comportamento. Na Figura 5.23 se observa a evolução dos potenciais depois da adição do carbonato de cálcio no solo e a posterior adição de água. Observa-se uma leve diminuição do potencial na primeira altura, indicando um ligeiro aumento de pH, porém não se observa nenhuma variação nas outras profundidades. Este comportamento é devido tanto à alta capacidade tamponadora do solo com também à baixa solubilidade do carbonato de cálcio. Por este motivo utilizou-se uma solução de KOH de concentração 2 mol L^{-1} para ver o comportamento de uma correção básica no solo de forma mais rápida. Um comportamento análogo ao anterior é demonstrado, onde a variação mais brusca de potencial se dá a 5 cm e variações menores são observadas a 20 e 50 cm devido a processos de diluição e de retenção do solo.

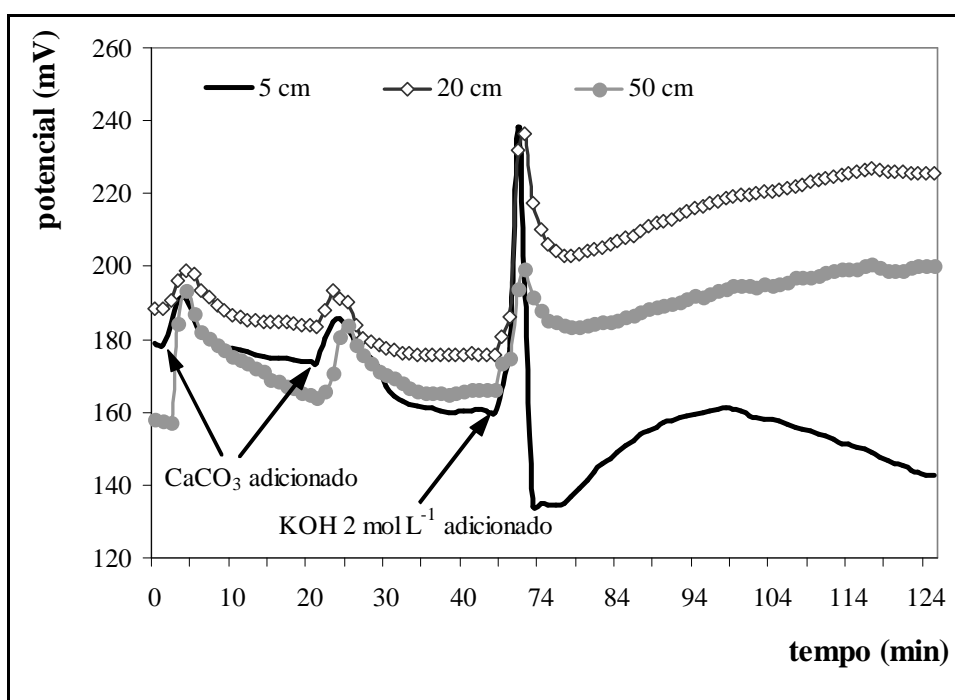


FIGURA 5.23. Evolução dos potenciais relacionados com a mudança do pH do solo causada pela correção alcalina.

5.3.4 – Cálcio (Ca^{2+})

Com o objetivo de verificar a eficácia do funcionamento das membranas depositadas, uma avaliação dos parâmetros eletroanalíticos era realizada a cada deposição da membrana pela calibração com a utilização de algodões umedecidos com soluções padrões de CaCl_2 . A Figura 5.24 demonstra um gráfico da variação da concentração de Ca^{2+} realizada como descrito anteriormente, tanto com adições sucessivas de concentrações crescentes quanto decrescentes de Ca^{2+} sobre as membranas. Do gráfico, verifica-se a reprodutibilidade dos sinais obtidos em ambas as etapas, com a inexistência de um possível efeito de memória, atestando a qualidade das membranas utilizadas.

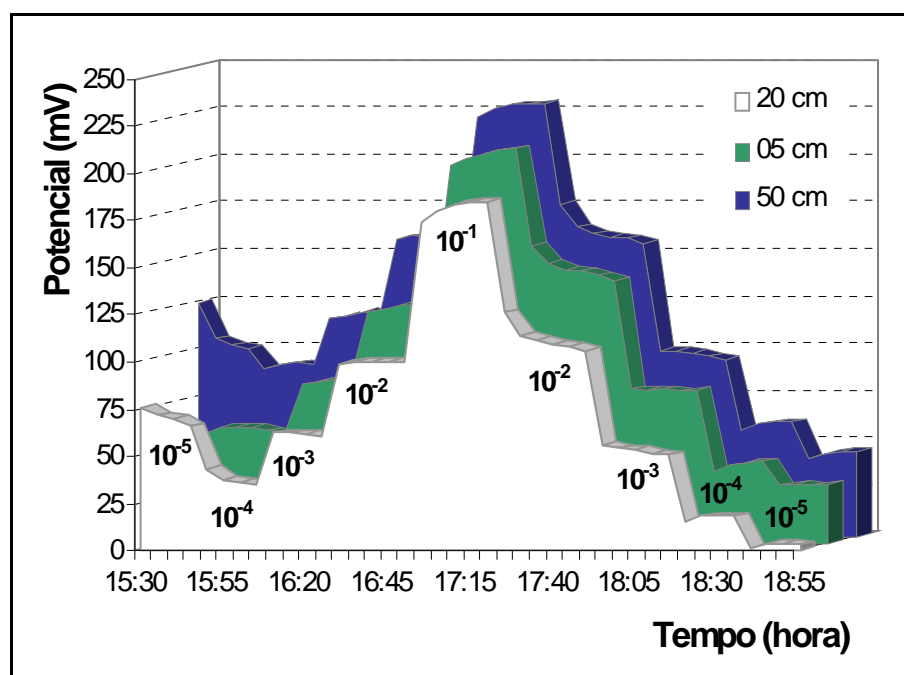


FIGURA 5.24. Gráfico da variação da concentração de Ca^{2+} em cada sensor, para avaliação das membranas depositadas. Concentrações em mol L^{-1} . Soluções aplicadas com a utilização de algodão umedecido, realizadas fora do solo. Eixo do tempo: hora do dia em que a aquisição dos dados foi realizada.

O mesmo perfil ocorreu quando as membranas foram testadas dentro do solo, com as soluções sendo adicionadas por uma mangueira com saída na parte superior da sonda. A Tabela 5.9 apresenta algumas características de cada membrana obtidas durante esta etapa do trabalho. Observa-se uma ótima

repetibilidade entre as membranas depositadas, apesar de se verificar sensibilidade superernstiana para todos os casos, mesmo quando a membrana é aplicada dentro do solo. Tal característica também foi apresentada pela membrana de potássio, à qual pode ser atribuída como resultado das características de trabalho empregadas na variação das concentrações (algodões umedecidos), que superestima a componente de difusão e ignora a componente de convecção, contrário do que se pratica normalmente para a determinação das características eletroanalíticas dos sensores potenciométricos.

A diferença de precisão observada entre os eletrodos a 5 cm, o qual é mais preciso e os a 20 e 50 cm, que parecem ser mais semelhantes, pode ser explicada pela variação na construção dos eletrodos, que é realizada de forma manual. Entretanto, tais características ressaltadas, sensibilidade superernstiana e precisão, não desmerecem a aplicação analítica desses sensores com o objetivo a que estão sendo propostos. Complementando as características eletroanalíticas obtidas, os eletrodos possuem uma faixa linear de trabalho de 1×10^{-3} a 1×10^{-1} mol L⁻¹ e um limite de detecção de aproximadamente 1×10^{-3} mol L⁻¹ (40 ppm), ambos obtidos para calibração dentro do solo, já que esta é a aplicação final desta sonda.

TABELA 5.9. Curvas analíticas obtidas para a caracterização das membranas poliméricas de Ca²⁺. y: potencial em mV e, x: logaritmo da concentração de cálcio em mol L⁻¹. (n = 3)

Altura	Fora do solo	Dentro do solo
5 cm	$Y = 63,9(\pm 2,70) x + 265(\pm 2,93)$	$y = 56,3(\pm 1,59) x + 200(\pm 0,39)$
20 cm	$Y = 69,6(\pm 9,11) x + 273(\pm 46,4)$	$y = 60,2(\pm 5,39) x + 229(\pm 22,1)$
50 cm	$Y = 67,5(\pm 10,9) x + 309(\pm 67,5)$	$y = 59,1(\pm 8,70) x + 250(\pm 39,8)$

A avaliação da sonda no solo incluiu a observação do comportamento da instrumentação eletrônica e do perfil dos analitos após a aplicação, como descrito anteriormente. Primeiramente, a sonda foi colocada no tubo PVC e este foi preenchido com solo. Logo após, uma grande quantidade de água foi adicionada sobre o solo. A Figura 5.25 mostra esta etapa, com a diminuição progressiva da concentração de Ca²⁺ no sensor a 5 cm. Também mostra um pequeno aumento da concentração de Ca²⁺ seguido pela diminuição progressiva da concentração a 20 cm. Finalmente, a 50 cm há um aumento mais pronunciado da concentração de

Ca^{2+} , seguido da diminuição progressiva da concentração. Tal experimento demonstra a percolação do cálcio prontamente disponível na solução do solo.

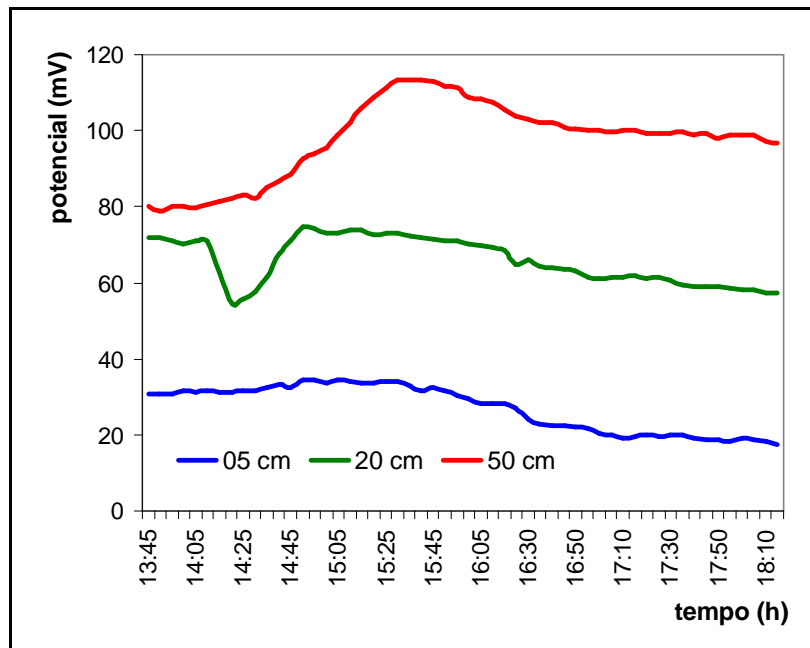


FIGURA 5.25. Evolução dos potenciais registrados pelos sensores de cálcio frente à adição de uma grande quantidade de água sobre o solo. Eixo do tempo: hora do dia em que a aquisição dos dados foi realizada.

Após a estabilização do solo, obtida na etapa anterior, prosseguiu-se o experimento com a observação dos potenciais frente à variação da concentração de Ca^{2+} . Para isso, utilizaram-se adições sucessivas de soluções de CaCl_2 alternadas com água, demonstradas na Figura 5.26. Inicialmente, os sensores apresentam um valor constante de potencial. Depois da adição da solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ podem ser observadas três curvas com potenciais quase semelhantes. Primeiramente, no sensor a 5 cm de profundidade, uma variação abrupta de potencial é observada (aproximadamente 130 mV), indicando o aumento da concentração de Ca^{2+} nessa região do solo, com o retorno à linha base inicial após adições sucessivas de água para forçar a percolação do Ca^{2+} . Após aproximadamente 24 horas, há o retorno do sinal a 5 cm para sua linha base inicial, sugerindo que todo cálcio adicionado tenha sido percolado para as camadas inferiores. Após esse retorno, realizou-se a adição de uma solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de Ca^{2+} e novamente ocorreu um salto de potencial, agora mais suave, indicando o aumento da concentração na região do eletrodo, proporcional à concentração de cálcio adicionada.

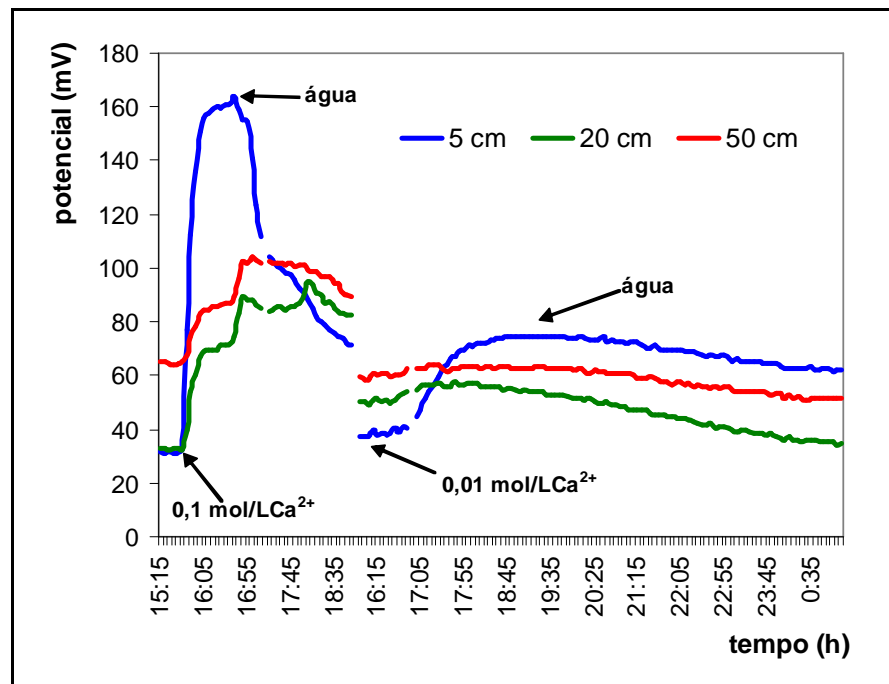


FIGURA 5.26. Evolução dos potenciais frente à variação da concentração de Ca^{2+} com adições sucessivas de soluções de CaCl_2 alternadas com água sobre o solo. Eixo do tempo: hora do dia em que a aquisição dos dados foi realizada.

Ao mesmo tempo em que há um salto de potencial no sensor a 5 cm, há outro salto no sensor a 20 cm, porém bem mais suave (aproximadamente 30 mV). Observa-se também que o mesmo chega ao seu máximo ao mesmo tempo em que o sinal do sensor a 5 cm, mantendo uma ligeira estabilidade no sinal. Esse comportamento pode ser um indício de que o sensor de Ca^{2+} esteja sendo influenciado pela mudança brusca do teor de íons no solo, ou seja, pela mudança da força iônica do meio. Tal comportamento é repetido pelo sensor a 50 cm. Após a ligeira estabilidade do sinal, há um aumento do potencial no sensor a 20 cm, indicando que o excesso de cálcio que estava a 5 cm fora percolado para a região a 20 cm. Tal aumento de potencial também é indicado pelo sensor a 50 cm no mesmo momento, fortalecendo a hipótese de que os sensores estão sendo fortemente influenciados por mudanças bruscas da força iônica do solo.

Esse experimento foi realizado com o objetivo de se obter variações visíveis da concentração de cálcio no solo. Entretanto, como se sabe das práticas realizadas para o suprimento de cálcio no solo, o mesmo é corrigido apenas com a correção do pH do solo, estando presente em menores quantidades nos outros

fertilizantes adicionados. Assim, é praticamente improvável uma variação brusca da concentração de cálcio no solo, suportada também pelo fato do carbonato de cálcio utilizado para a correção da acidez possuir baixa solubilidade, apesar do mesmo ser adicionado em grandes quantidades no solo. Isso permite a utilização dos sensores mesmo com os problemas detectados no experimento anterior.

A habilidade de detectar variações na concentração de cálcio foi verificada pela realização de algumas amostragens em diferentes momentos do experimento e os resultados obtidos pelo método comparativo foram confrontados com os respectivos potenciais gerados pelas sonda no mesmo momento em que foram realizadas as amostragens. As figuras 5.27 a 5.29 apresentam os registros dos potenciais e os resultados das análises pontuais via espectroscopia atômica de chama para os sensores a 5, 20 e 50 cm, respectivamente.

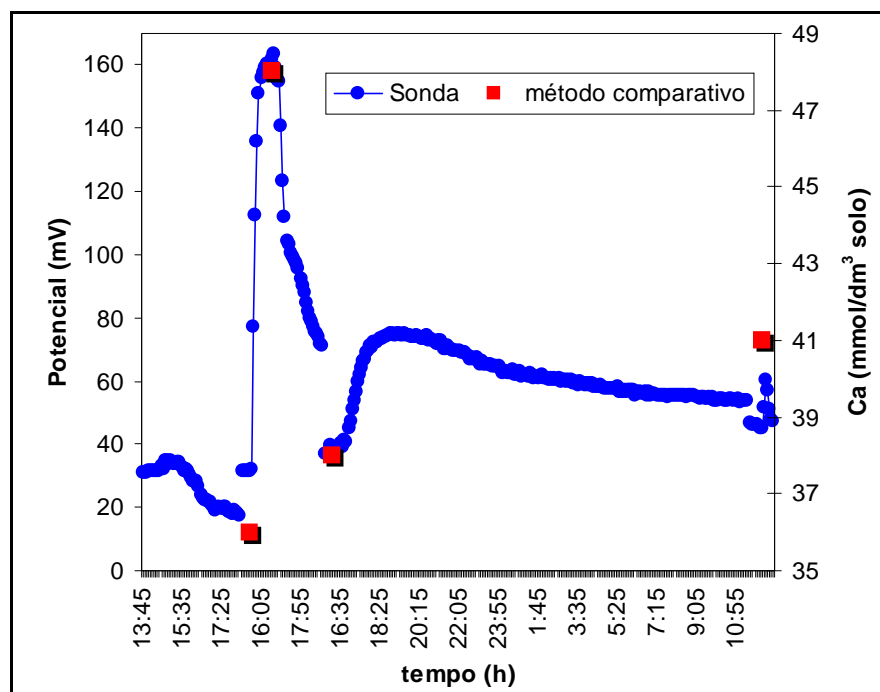


FIGURA 5.27. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e avaliação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 5 cm de profundidade.

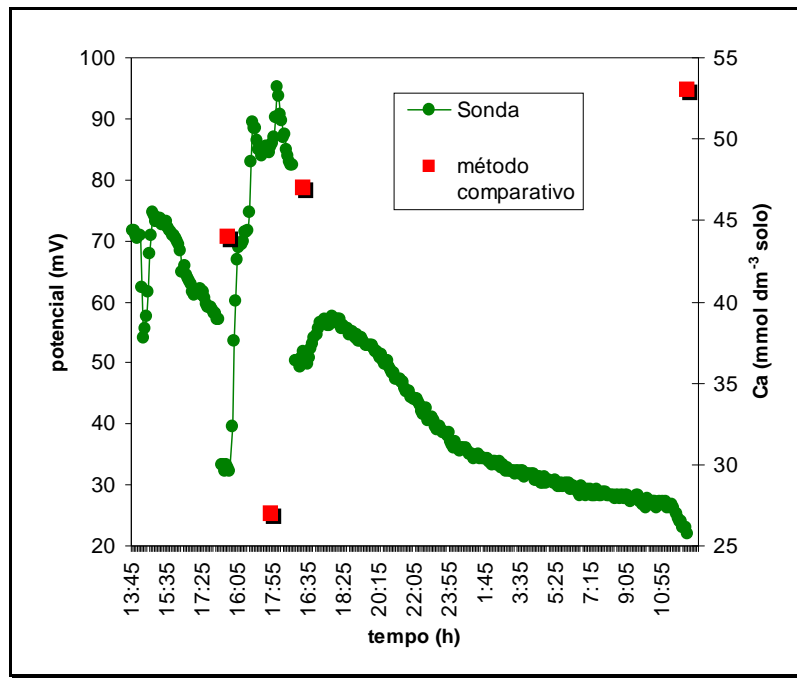


FIGURA 5.28. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e avaliação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 20 cm de profundidade.

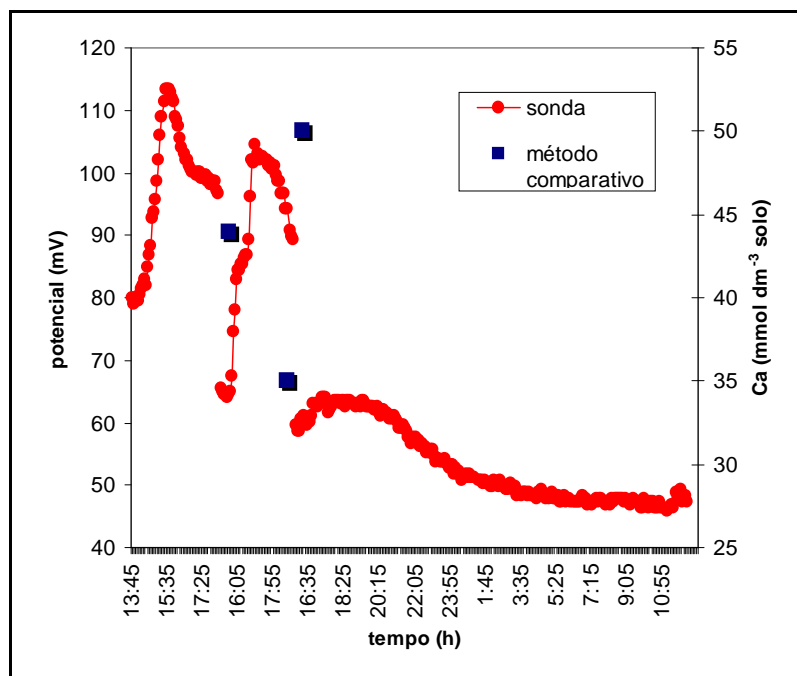


FIGURA 5.29. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e avaliação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 50 cm de profundidade.

Uma concordância satisfatória foi observada entre as duas metodologias somente para o sensor a 5 cm, a qual pode ser observada na Figura 5.27 e ratificada na Figura 5.30, a qual demonstra a relação matemática obtida entre as concentrações. Verifica-se que a maioria dos valores está situada em uma região não-linear da curva analítica. Essa região pode estar abaixo do limite de detecção determinado na etapa anterior dos experimentos, que é em torno de 40 ppm. A não concordância para as outras alturas pode estar relacionada à influência direta da mudança de força iônica no solo.

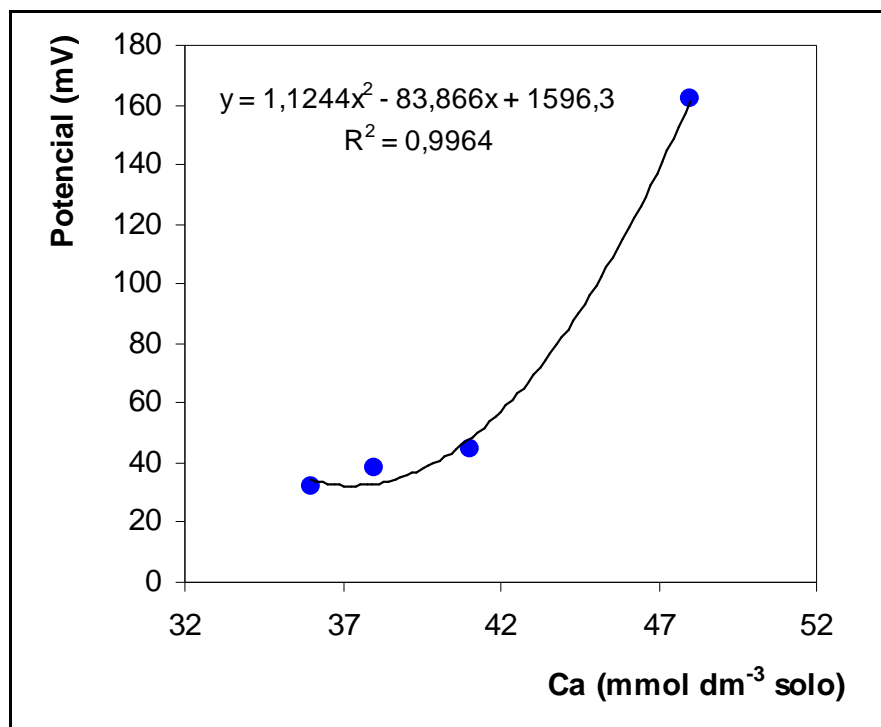


FIGURA 5.30. Relação entre a concentração de cálcio estabelecida pelo método padrão de comparação e os resultados obtidos pela sonda analítica para o sensor a 5 cm.

Dessa forma, um novo experimento semelhante ao realizado anteriormente foi programado e executado. Entretanto, uma modificação simples foi introduzida para se eliminar ou, pelo menos, minimizar a influência exercida pela mudança brusca de concentração sobre os eletrodos. Neste experimento, as amostras só foram tomadas 24 horas após a mudança de concentração no solo, diferenciando do experimento anterior, onde as amostragens foram realizadas minutos após a mudança de concentração. Desse modo, o desequilíbrio

momentâneo provocado pela variação brusca de concentração poderia ser minimizado, sendo as amostragens correlacionadas de forma mais correta, com os potenciais estabilizados.

Procurou-se também modificar a membrana polimérica utilizada, com o objetivo de se obter um menor limite de detecção e, conseqüentemente, maior faixa linear de trabalho. A nova composição utilizada foi a seguinte:

- 1,0 % Bis [4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil] fosfato de cálcio
- 65,0 % Bis (2-etilhexil)ftalato
- 33,0 % Poli (vinil cloreto) de alto peso molecular
- 1,0 % Tetrakis (4-clorofenil)borato de potássio

A Tabela 5.10 apresenta as características de cada nova membrana, obtidas durante esta etapa do trabalho. Observou-se um aumento significativo da sensibilidade, sem a perda da repetibilidade entre as membranas. Além disso, houve um ganho quanto ao limite de detecção no solo, que diminuiu para aproximadamente $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (4 ppm).

TABELA 5.10. Curvas analíticas obtidas para a caracterização das novas membranas poliméricas de Ca^{2+} . y: potencial em mV e, x: logaritmo da concentração de cálcio em mol L^{-1} .

Altura	Equações
05 cm	$y = 123,8x + 546,9$
20 cm	$y = 123,4x + 543,0$
50 cm	$y = 118,4x + 480,5$

Com as novas membranas caracterizadas, realizou-se a variação da concentração de cálcio no solo e o acompanhamento dos potenciais. A Figura 5.31 mostra os resultados deste novo experimento, no qual foram realizadas novas amostragens de acordo com o descrito anteriormente, ou seja, 24 horas após a modificação da concentração.

Como no experimento anterior, inicialmente os sensores apresentam um valor constante de potencial. Depois da adição de 10 mL da solução $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, três curvas de potencial quase semelhantes podem ser observadas. Ou seja, observa-se o mesmo efeito sofrido pela membrana anterior, uma forte influência da mudança

brusca de concentração sobre um sensor, a qual é detectada pelos outros sensores. Primeiramente, no sensor a 5 cm de profundidade, um salto abrupto de potencial de aproximadamente 300 mV é observado, indicando o aumento da concentração de Ca^{2+} nessa região do solo. Pode-se observar que tal salto é bem maior que o observado para a adição de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e que o potencial não retorna ao valor de potencial inicial após adições sucessivas de água para forçar a percolação do Ca^{2+} , indicando que uma grande quantidade de cálcio fora adicionada em excesso.

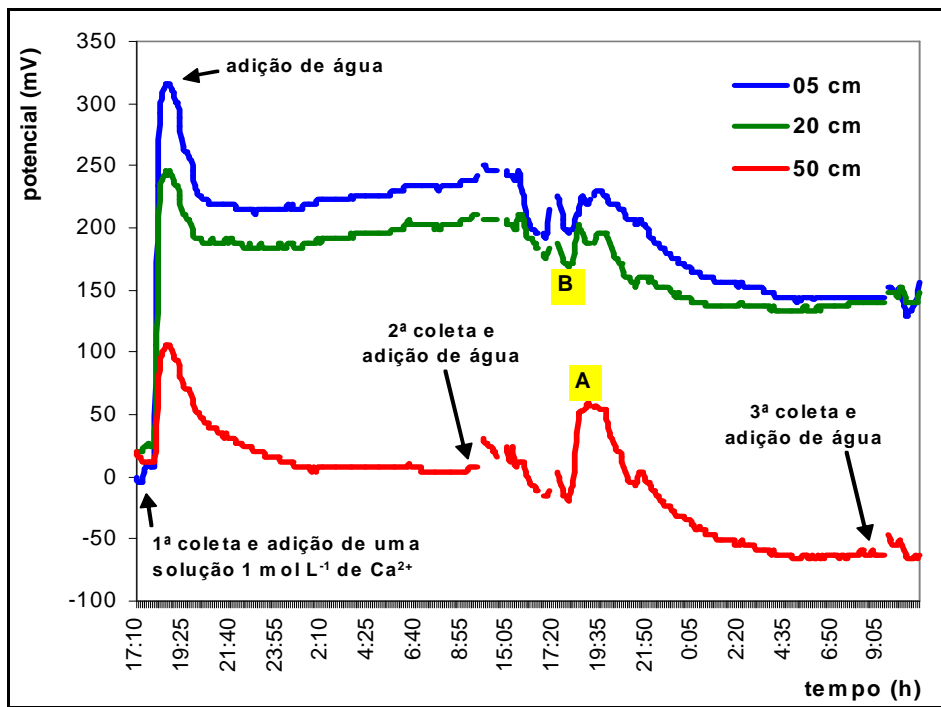


FIGURA 5.31. Evolução dos potenciais frente à variação da concentração de Ca^{2+} com adições sucessivas de soluções de CaCl_2 alternadas com água sobre o solo. Eixo do tempo: hora do dia em que a aquisição dos dados foi realizada. A e B: maiores detalhes no texto.

Após 24 horas, aproximadamente, há o retorno do sinal referente ao sensor localizado a 50 cm para sua linha base inicial, como era esperado. Entretanto, no sensor a 20 cm esse retorno não ocorreu, o que leva a especular que o excesso de cálcio já havia alcançado a altura do segundo sensor após esse tempo. Após a segunda coleta, mais água foi adicionada ao solo para forçar a percolação do Ca^{2+} . Com as sucessivas adições de água após a segunda coleta, observa-se uma diminuição dos potenciais dos sensores, até que se observa no ponto A um aumento do potencial no sensor a 50 cm, indicando uma possível

lixiviação do Ca^{2+} em direção à essa profundidade, o que também é detectado pelos sensores a 5 e 20 cm, como demonstrado em B. A partir dessas observações, as adições de água foram suspensas para se avaliar o comportamento dos sensores. Entretanto, após mais 24 horas, toda a água adicionada percolou, lixiviando o Ca^{2+} detectado a 50 cm e causando uma diminuição do potencial tanto nesse sensor quanto nos outros dois, embora menos pronunciado nesses últimos. Nessa etapa foi realizada a terceira coleta de solo.

As figuras 5.32 a 5.34 demonstram a avaliação completa a cada altura individualmente, com os resultados das análises comparativas realizadas nas amostras de solo coletadas durante o experimento. Observa-se que com a adoção da coleta após 24 horas de realização de alguma mudança na concentração do cálcio, os resultados apresentaram uma melhor concordância com os potenciais registrados. A partir destas figuras e da relação dos valores encontrados de concentração de cálcio com os potenciais subministrados pelo sistema sensor, demonstra-se uma boa correlação entre as duas metodologias. A 5 cm, $y = 29,6 \cdot x - 531,2$ ($R^2 = 0,977$); a 20 cm, $y = 10,3 \cdot x - 295,1$ ($R^2 = 0,9129$); e a 50 cm, $y = 11,5 \cdot x - 373,8$ ($R^2 = 0,9778$), sendo y o potencial em mV e x a concentração de Ca^{2+} em $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$.

Destas equações observa-se também uma sensibilidade similar para os sensores de 20 e 50 cm, diferentemente do sensor a 5 cm. Este fenômeno pode ser explicado pela diferença do teor de umidade entre as alturas determinadas através de TDR. Os valores determinados de umidade do solo nas diferentes alturas são: 5 cm entre 14-18 %, a 20 cm entre 21-24 % e a 50 cm entre 10-26 %.

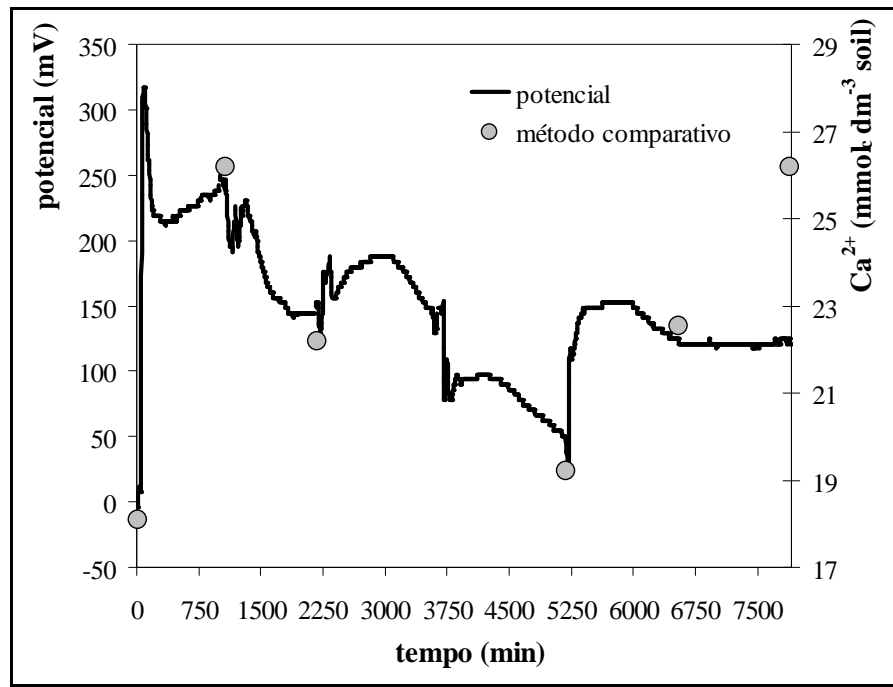


FIGURA 5.32. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 5 cm de profundidade.

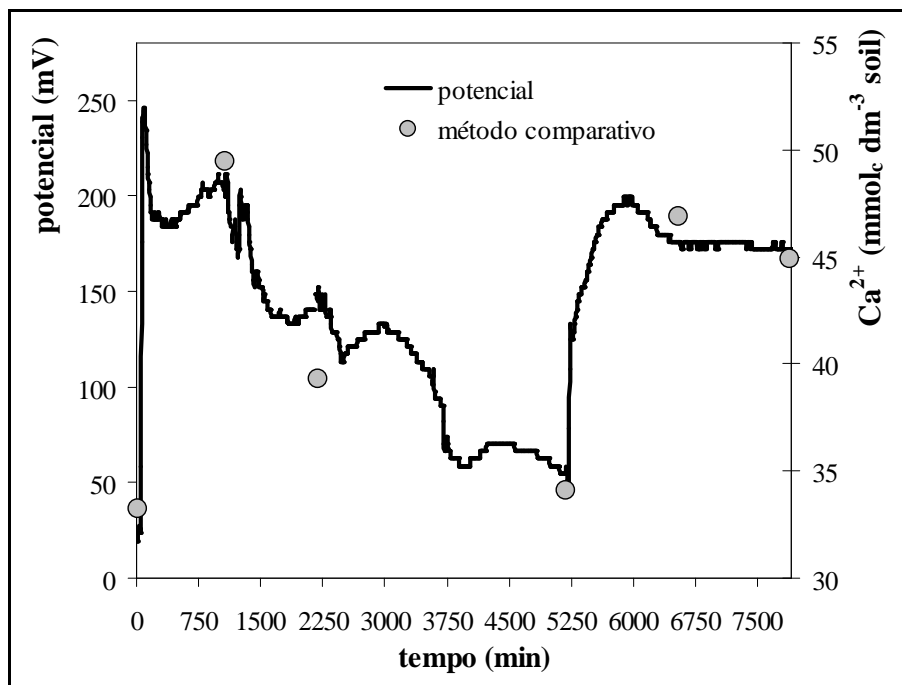


FIGURA 5.33. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 20 cm de profundidade.

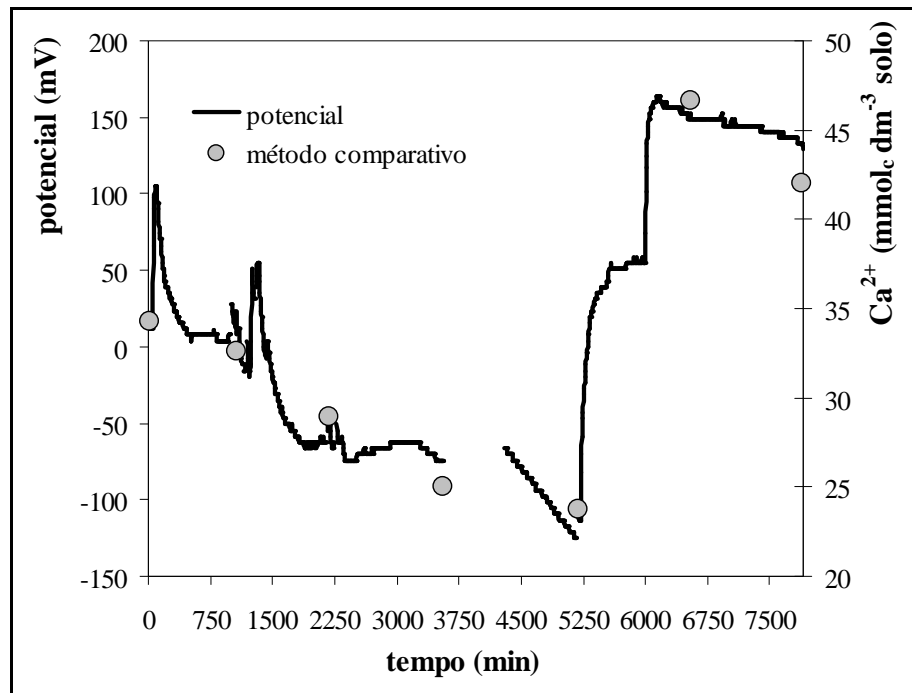


FIGURA 5.34. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de Ca^{2+} no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação para o sensor a 50 cm de profundidade.

Na Figura 5.35 é apresentada a influência da umidade na resposta dos sensores. Para baixos valores de umidade, o sensor apresenta uma resposta mais sensível (quase três vezes mais) à variação da concentração de cálcio em comparação ao comportamento que apresenta quando os valores de umidade são maiores. Esta diferenciação pode ser explicada devido ao fato de que o sistema sensor mede a atividade de cálcio na solução do solo, sendo diferente entre as alturas. Os valores de umidade foram determinados no momento da coleta da amostra, sempre 24 horas após a adição de soluções de cálcio ou água destilada sobre a superfície do solo. Desta maneira, foram garantidas condições semelhantes de umidade a cada altura para as amostras coletadas.

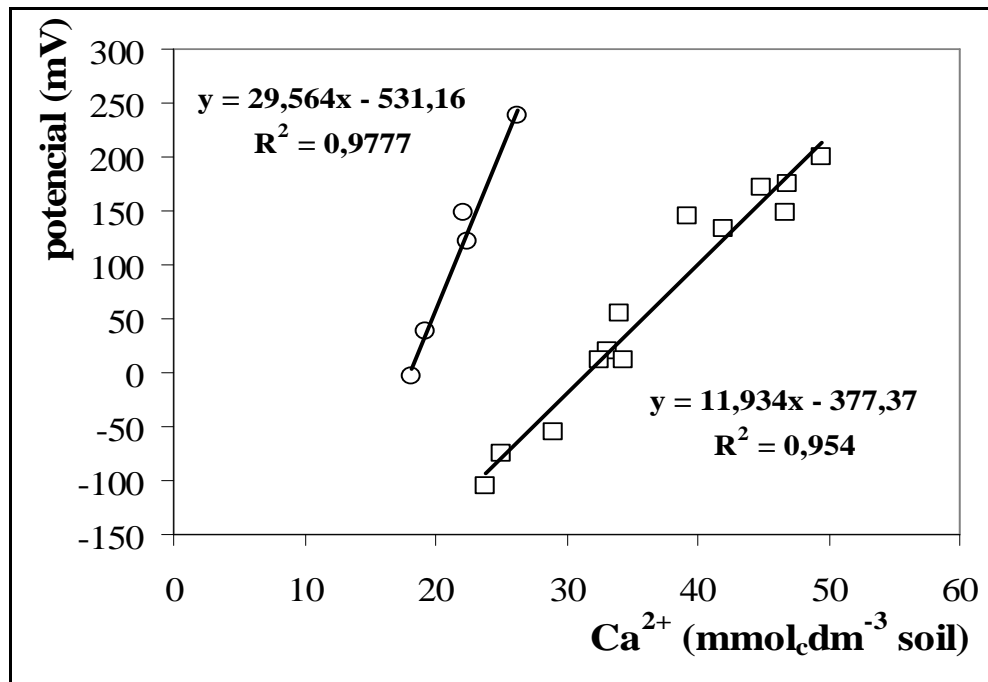


FIGURA 5.35. Influência da umidade do solo sobre as respostas dos sensores. ○ Faixa de umidade do solo: 14 – 18 %. □ Faixa de umidade do solo: 19 – 26 %.

De posse das informações que caracterizavam a resposta dos sensores no solo, procurou-se construir um modelo de calibração que pudesse determinar a concentração de cálcio no solo a partir dos valores de potencial e umidade gerados pela sonda. Foi empregada a técnica de regressão linear múltipla (MLR), a qual utilizou um conjunto com 20 dados de potencial e umidade, obtidos através da sonda analítica e, dados de concentração obtidos através do método comparativo. O modelo produzido obteve um coeficiente de ajuste $R^2 = 0,8146$ e $RMSEP = 5,627$, que é o erro padrão associado a uma resposta. A equação obtida para o modelo é a seguinte: $Ca \text{ (mmol}_c \text{ dm}^{-3} \text{ de solo)} = -2,71(\pm 6,43) + 0,09(\pm 0,02) \cdot \text{potencial} + 1,61(\pm 0,32) \cdot \text{constante dielétrica } (\epsilon)$. Foi utilizado o software TeachMe (Vienna University of Technology) para a realização dos cálculos. A Tabela 5.11 mostra uma comparação realizada entre os valores de cálcio determinados experimentalmente e os obtidos através de regressão para algumas amostras. O coeficiente de ajuste e o erro padrão podem melhorar com o aumento do número de dados adicionados ao modelo. Mesmo assim, não desmerecem a aplicação do sistema para a determinação semiquantitativa de cálcio em solos.

TABELA 5.11. Comparação entre os valores de cálcio determinados experimentalmente e os obtidos através de regressão para 5 amostras.

Amostra	Valor Experimental (mmol _c dm ⁻³ de solo)	Valor calculado (mmol _c dm ⁻³ de solo)	Erro
1	34,3	34,2	-0,1
2	22,5	26,3	3,8
3	32,2	29,9	-2,3
4	19,2	17,9	-1,3
5	39,5	40,9	1,4

5.3.5 – Fósforo (H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻)

Com o objetivo de verificar a eficácia do funcionamento das membranas depositadas, uma avaliação dos parâmetros eletroanalíticos foi realizada após a deposição da membrana pela calibração com a utilização de algodões umedecidos com soluções padrão de fosfato. Observou-se que o sensor apresentou uma faixa linear de trabalho de 1×10^{-5} a 1×10^{-1} mol L⁻¹, com um limite de detecção em torno de 1×10^{-5} mol L⁻¹ e sensibilidade próxima da nernstiana, esperada para o tipo de espécie de fosfato a que foi desenvolvido, ou seja, para a detecção da espécie HPO₄²⁻, que deve apresentar sensibilidade teórica de aproximadamente 29 mV dec⁻¹.

Quando a membrana foi empregada em experimentos dentro do solo, esta apresentou modificações em suas características eletroanalíticas de acordo com o pH do solo, como esperado, diminuindo sua faixa linear de trabalho, porém melhorando o limite de detecção. A mesma foi testada em dois valores de pH distintos num mesmo solo, para a observação de seu comportamento. Em ambos os casos, as membranas mantiveram uma faixa linear de trabalho de 1×10^{-6} a 1×10^{-3} mol L⁻¹, com um limite de detecção em torno de 1×10^{-6} mol L⁻¹. Quando aplicada em um solo com pH em torno de 6, entretanto, a membrana apresenta sensibilidade em torno de 13 mV déc.⁻¹ e, quando o pH é modificado e passa a ser maior que 8, a membrana apresenta sensibilidade de aproximadamente 37 mV déc.⁻¹. Os resultados estão demonstrados na Figura 5.36.

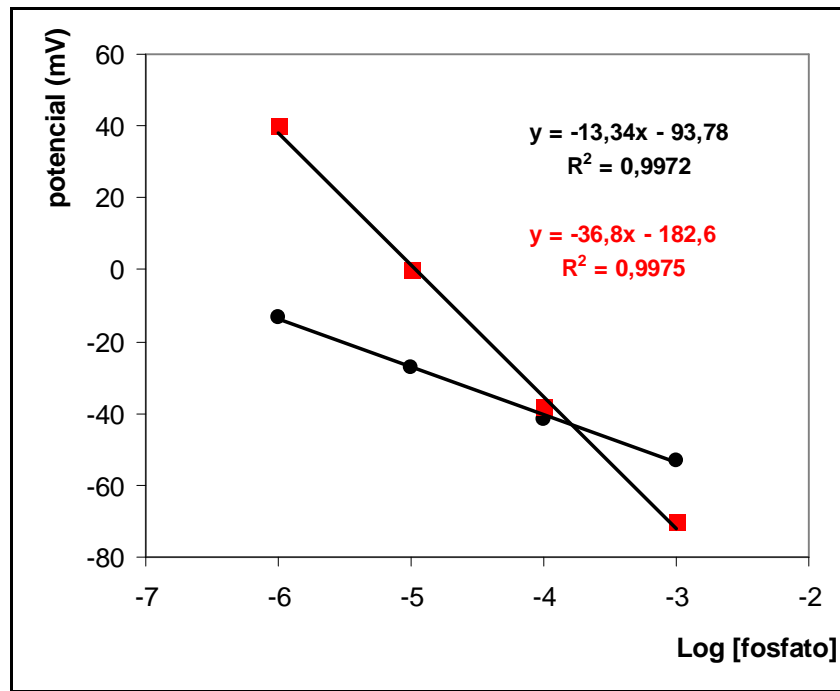


FIGURA 5.36. Curvas analíticas obtidas da variação da concentração de fósforo no solo frente à adição de soluções padrões de fosfato para o sensor a 50 cm. Legenda: ● pH 6; ■ pH > 8.

O comportamento observado para os sensores de P pode ser esclarecido com o conhecimento das espécies de P em cada pH estudado. A pH 6 há uma minoria da espécie HPO_4^{2-} frente H_2PO_4^- , a qual se apresenta em torno de 90%. Como o sensor foi desenvolvido para a detecção da espécie HPO_4^{2-} , a pH 6 o sensor aparentemente está “enxergando” a espécie H_2PO_4^- , apresentando assim uma baixa sensibilidade. Quando o pH está próximo de 8 ocorre o inverso, existindo cerca de 90% das espécies de fósforo na forma de HPO_4^{2-} , resultando num aumento considerável na sensibilidade.

A avaliação do comportamento do fósforo no solo examinada com o auxílio da sonda não foi realizada nesta etapa do trabalho, sendo deixada para a etapa de desenvolvimento da sonda analítica com quatro sensores a cada altura, denominada de sonda NPK (Seção 5.3.7). Na mesma etapa de desenvolvimento também foi avaliada a membrana para a determinação de amônio, bem como seu comportamento no solo, como citado anteriormente.

5.3.6 – Determinação da Umidade via TDR (refletometria no domínio do tempo)

Como descrito anteriormente, primeiramente foi empregada uma configuração de construção da antena de trabalho na forma de trilha de cobre impressa e fixada sobre o corpo da sonda, ao lado de cada sensor (Figura 4.12). O comprimento total de cada trilha e a distância entre as mesmas foram estipulados em 10 cm e 2 mm, respectivamente. Entretanto, esta antena se mostrou suscetível a ação abrasiva do solo, perdendo sua parte metálica em poucas semanas. Além disso a mesma apresentava resolução muito baixa para poder ser aplicada em solo, com um valor de ϵ um terço menor que o valor teórico em calibração com água.

Dessa forma, uma resina condutora a base de prata (EpoTek H77, Epoxy Technology) foi testada em substituição à trilha de cobre impressa para evitar os efeitos danosos causados pelo solo. Uma nova trilha foi impressa no corpo da sonda, nas mesmas dimensões citadas acima, utilizadas para a trilha de cobre. Entretanto, verificou-se a ineficiência da resina, uma vez que a mesma não apresentava capacidade de condução elétrica nas condições empregadas no trabalho.

Uma terceira tentativa foi realizada para a construção da antena, empregando-se apenas duas hastes de cobre de 1,8 mm de diâmetro e 10 cm de comprimento como emuladoras de uma configuração de transmissão paralela. A distância entre as mesmas foi estipulada em aproximadamente 2,2 mm e as mesmas foram adaptadas ao corpo da sonda. A antena foi utilizada no acompanhamento da umidade nos estudos da aplicação da membrana de cálcio no solo. Foram realizadas vinte amostragens e os resultados de umidade volumétrica determinados gravimetricamente foram relacionados às constantes dielétricas obtidas no respectivo momento da coleta. A Figura 5.37 apresenta o perfil obtido para antena desenvolvida em comparação com o perfil teórico desenvolvido por TOPP e colaboradores (1980). Embora a curva de Topp seja para a relação entre a constante dielétrica e a umidade volumétrica, pode-se considerar que a antena proposta conseguiu descrever satisfatoriamente a variação de umidade, uma vez que a partir da correção dos valores de umidade gravimétrica para volumétrica, a curva estará na mesma magnitude da curva de Topp. Adicionalmente, a característica apresentada pode estar relacionada à construção da antena, uma vez

a constante dielétrica encontrada para a água em etapa prévia de calibração foi de 51,12, quando o teórico seria em torno de 80, para temperatura a 25°C. Entretanto, tal característica não afeta significativamente a aplicabilidade do sistema, como pôde ser observado nos resultados.

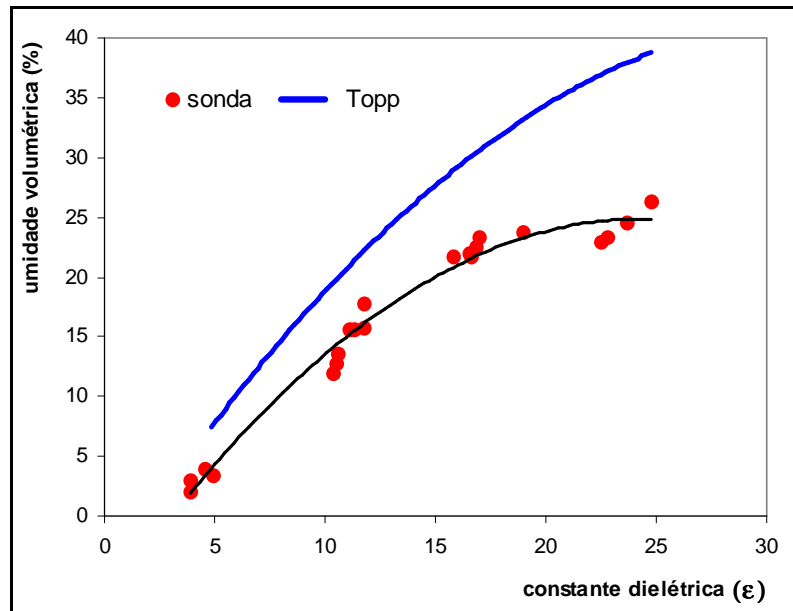


FIGURA 5.37. Curva de calibração para a antena desenvolvida e comparação com a curva proposta por Topp.

5.3.7 – Sonda NPK

Todos os experimentos realizados anteriormente deram embasamento para o desenvolvimento de uma nova sonda de análise com as mesmas características das sondas anteriores, porém com a utilização de quatro sensores íon-seletivos em cada altura de trabalho. Tal sonda permitiu o monitoramento de quatro analitos diferentes ao mesmo tempo, descritos a seguir: amônio, nitrato, potássio e fósforo. Dessa forma, proporcionou-se o desenvolvimento de um protótipo de sistema analítico de monitoramento dos principais macronutrientes necessários ao crescimento dos cultivos em geral, ou seja, N, P e K.

5.3.7.1 – Avaliação com algodões umedecidos

A avaliação completa de todos os sensores não será demonstrada aqui, pois os resultados foram relativamente semelhantes aos citados anteriormente. Serão apenas comentados os resultados obtidos quando da utilização da solução de composição mista, ou seja, uma solução contendo todos os elementos em estudo, em comparação com os obtidos quando da experimentação contra uma solução de composição mais simples, ou seja, uma solução contendo somente o elemento de interesse. Adicionalmente serão demonstrados alguns resultados obtidos para o sensor de determinação de NH_4^+ , uma vez que o mesmo ainda não havia sido citado anteriormente.

Os resultados obtidos com o emprego da solução de composição mista demonstraram perdas de sensibilidade, limite de detecção e faixa linear de trabalho em todos os sensores, comparados aos resultados obtidos para os mesmos sensores quando avaliados com soluções analíticas de composição mais simples. Tais decréscimos na qualidade dos sensores podem ser explicados através da metodologia empregada, que utilizou soluções de concentração elevada de todos os analitos. Ou seja, apesar de haver um aumento crescente dos analitos de interesse em cada sensor, havia também um aumento proporcional e superior do eletrólito suporte em cada situação de concentração (1×10^{-5} a 1×10^{-1} mol L⁻¹). Esse aumento crescente provocou a diminuição da seletividade em cada sensor e, por consequência, alterou negativamente as propriedades analíticas dos mesmos individualmente. Entretanto, essas perdas se mostraram insignificantes do ponto de vista da aplicação da sonda no solo, uma vez que situações similares à desenvolvida no estudo raramente se farão presentes em solo, com nutrientes estando presentes todos em elevadíssimas concentrações no mesmo momento, garantindo o bom funcionamento da sonda.

Quanto à avaliação dos sensores empregados para detecção de NH_4^+ , a Figura 5.38 mostra os perfis de potencial nos sensores correspondentes a 5 e 50 cm de profundidade e uma curva analítica obtida com o emprego de soluções analíticas de NH_4Cl nas concentrações variando de 1×10^{-5} a 1×10^{-1} mol L⁻¹. Como se podem observar, os sensores obtiveram sensibilidade sub-nernstiana, limite de detecção em torno de 1×10^{-4} mol L⁻¹ (1,8 ppm) e faixa linear de trabalho de 1×10^{-4} a 1×10^{-1} mol L⁻¹.

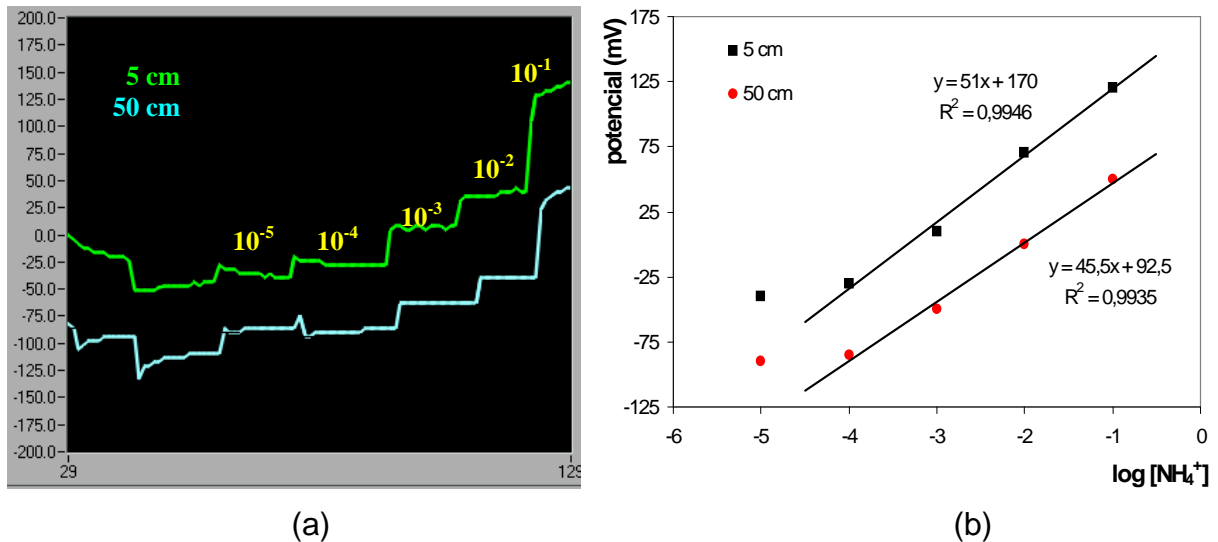


FIGURA 5.38. (a) Perfis de potencial nos sensores correspondentes a 5 e 50 cm de profundidade e (b) uma curva analítica obtida para os mesmos sensores com o emprego de algodões umedecidos com soluções analíticas de NH_4^+ .

5.3.7.2 – Avaliação da sonda em solo no laboratório

Na Figura 5.39 têm-se dois momentos diferentes da experimentação da sonda analítica com 4 sensores a cada profundidade e instalada no solo, no laboratório. Os dois gráficos mostram a variação dos potenciais do conjunto de sensores instalados a 5 cm da superfície do solo, após a adição de uma mistura de fertilizantes sobre o perfil do solo. Após a aplicação, uma grande quantidade de água foi adicionada sobre o solo para forçar a solubilização e percolação do fertilizante.

No gráfico da Figura 5.39a, observam-se as modificações relacionadas com o alcance dos nutrientes no conjunto de sensores, elevando o potencial do sensor de K^+ e diminuindo os potenciais dos sensores de NO_3^- e P. Observa-se também que o potencial do sensor de NH_4^+ sofre uma pequena elevação do potencial inicialmente e, depois, o potencial diminui progressivamente com o decorrer do tempo. Tal comportamento é apenas o reflexo da mudança de força iônica do solo, indicada pelo conjunto de sensores, sendo comprovado com o passar do tempo pela adição contínua de água sobre o perfil do solo e lixiviação do NH_4^+ presente naquela região, uma vez que a mistura de fertilizantes não possui N-NH_4^+ .

Na Figura 5.39b, observa-se o mesmo conjunto de sensores após a fertilização contendo N-NH_4^+ . Os sensores de K^+ e NH_4^+ demonstram aumento dos potenciais, enquanto os sensores de P e NO_3^- apresentam diminuição dos potenciais. Tais experimentos demonstraram a aplicabilidade da sonda no acompanhamento das variações dos nutrientes no solo e credenciaram a mesma para a etapa seguinte de experimentações, onde um solo situado na unidade da Embrapa Instrumentação Agropecuária foi monitorado durante 60 dias sob diversas condições climáticas.

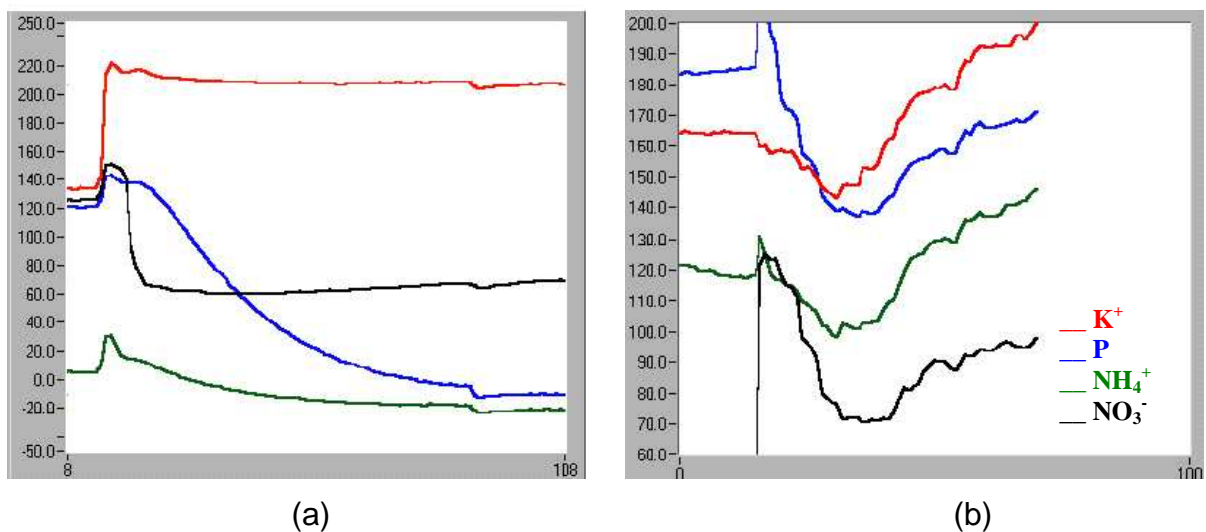


FIGURA 5.39. Dois momentos diferentes da avaliação da sonda analítica no solo. Variação dos potenciais provocada pela adição de fertilizantes sobre o perfil do solo. (a) Fertilizante sem N-NH_4^+ e, (b) fertilizante com N-NH_4^+ . Sensor localizado a 5 cm de profundidade.

5.3.7.3 – Aplicação da sonda analítica no monitoramento do solo

Com um número aproximado de 1000 horas de dados coletados durante 60 dias de funcionamento, a sonda analítica de monitoramento dos nutrientes N, P e K mostrou-se promissora na observação do comportamento da química da solução do solo, influenciada pelas mais diversas condições de clima, variações significativas na temperatura e na umidade solo. Deve-se salientar que o solo estudado é um solo não fertilizado e que não estava sob nenhum tipo de utilização para cultivo. O mesmo não foi caracterizado quanto a sua composição física.

Nos primeiros 30 dias, a sonda foi empregada com o objetivo de avaliar todo o sistema de aquisição, transmissão e armazenamento dos dados durante um longo período de funcionamento. A coleta dos dados foi iniciada no fim de setembro e prossegue até meados de novembro de 2004. A Figura 5.40 demonstra a variação da temperatura do solo captada pelos sensores de temperatura adaptados ao corpo da sonda, durante os três primeiros dias do experimento. Observam-se algumas características predominantes no comportamento da temperatura do solo e que permaneceram durante todo o experimento decorrido. Primeiramente, a grande diferença de amplitudes térmicas nas três profundidades estudadas. Observa-se maior variação térmica na superfície do solo (sensor a 5 cm), menor variação para a temperatura a 20 cm e pequenas flutuações a 50 cm. A camada superficial é submetida a maiores ou menores variações, de acordo com a temperatura do ar e apresenta, portanto, maior flutuação do que o subsolo. Via de regra, a camada superficial de 15 cm é mais quente do que o ar em qualquer estação do ano, ao passo que o subsolo é mais quente no outono e no inverno, porém mais frio na primavera e no verão, devido a sua posição protegida e ao atraso da condutibilidade (BRADY, 1983).

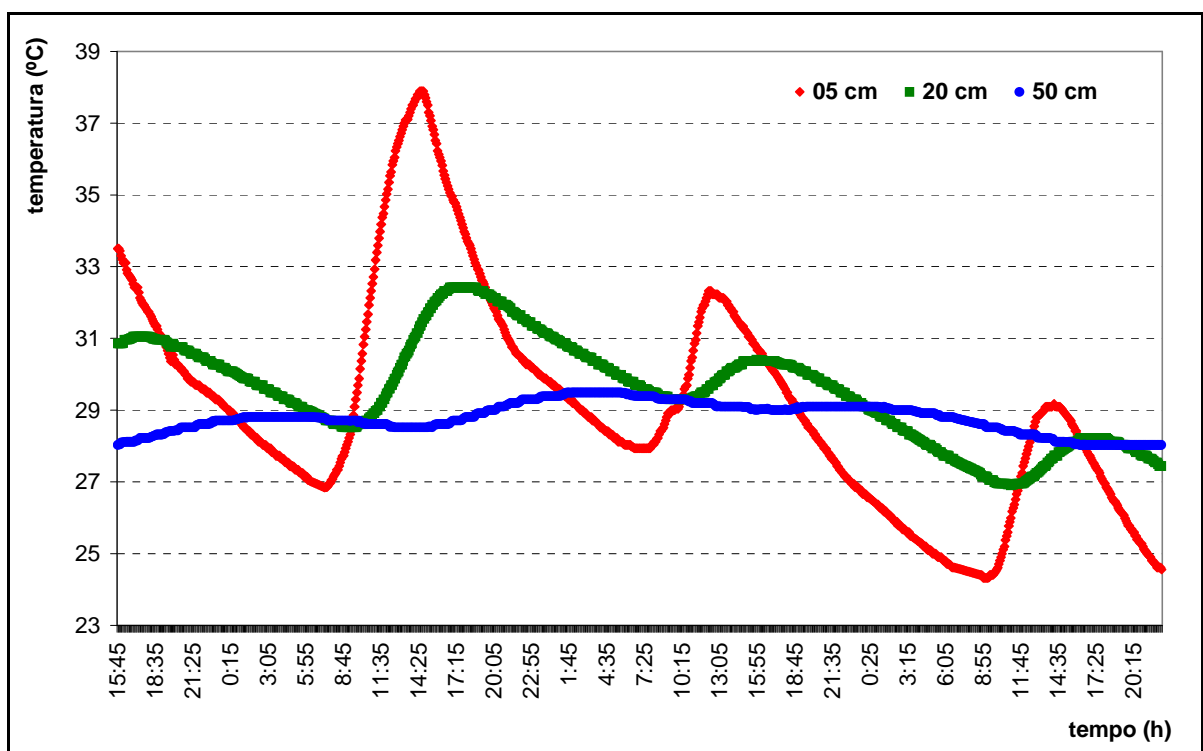


FIGURA 5.40. Variação da temperatura do solo durante os três primeiros dias do experimento.

Outra característica importante do comportamento da temperatura no solo é o deslocamento dos ciclos de máximo e mínimo a cada profundidade. Como se pode ver na Figura 5.41, o máximo de temperatura é atingido na camada a 20 cm algumas horas após o máximo de temperatura ter ocorrido na superfície (5 cm). O mesmo ocorre na camada mais profunda (50 cm), que atinge seu máximo quase 12 horas mais tarde, em plena madrugada. Essa diferença é consequência do modo como o calor se movimenta no solo, deslocando-se por condutibilidade. Com ciclo solar e dia claro, a temperatura do ar nas regiões temperadas se eleva desde o alvorecer até atingir o máximo em torno das duas horas. Entretanto, a superfície do solo não atinge este máximo senão mais tarde, devido ao atraso usual. Este atraso é maior com o aumento da profundidade, como também é menor a variação da temperatura (BRADY, 1983).

A Figura 5.41 apresenta a coleta de dados de temperatura durante 30 dias do experimento. Os dados correspondem a todo o mês de outubro de 2004. Observam-se alternâncias entre períodos de estiagem intensa e períodos chuvosos. Os períodos de estiagem foram caracterizados pelas altas médias de temperatura e grandes amplitudes térmicas. Os períodos de chuva intensa foram caracterizados por amplitudes térmicas menores e temperaturas bem mais amenas. Há também alguns períodos com características intermediárias, apresentando grandes amplitudes térmicas, mas temperaturas médias mais baixas que o período seco. Nesses períodos havia intenso calor durante o dia, o que provocava a incidência de chuvas no fim da tarde e durante a noite, fazendo com que a temperatura caísse significativamente durante a madrugada, voltando a elevar-se no decorrer do dia seguinte.

Tais afirmações podem ser verificadas da observação dos dados climatológicos obtidos durante o mesmo período do estudo (Figura 5.42). Os dados de temperatura do ar, precipitação pluviométrica, evaporação medida por evaporímetro de Piche e umidade relativa do ar média do dia foram coletados na estação meteorológica da Embrapa Pecuária do Sudeste (EMBRAPA, 2005). Todas essas informações devem ser consideradas na avaliação dos estados nutricionais do solo e também são potenciais influenciadores da resposta da sonda analítica no solo.

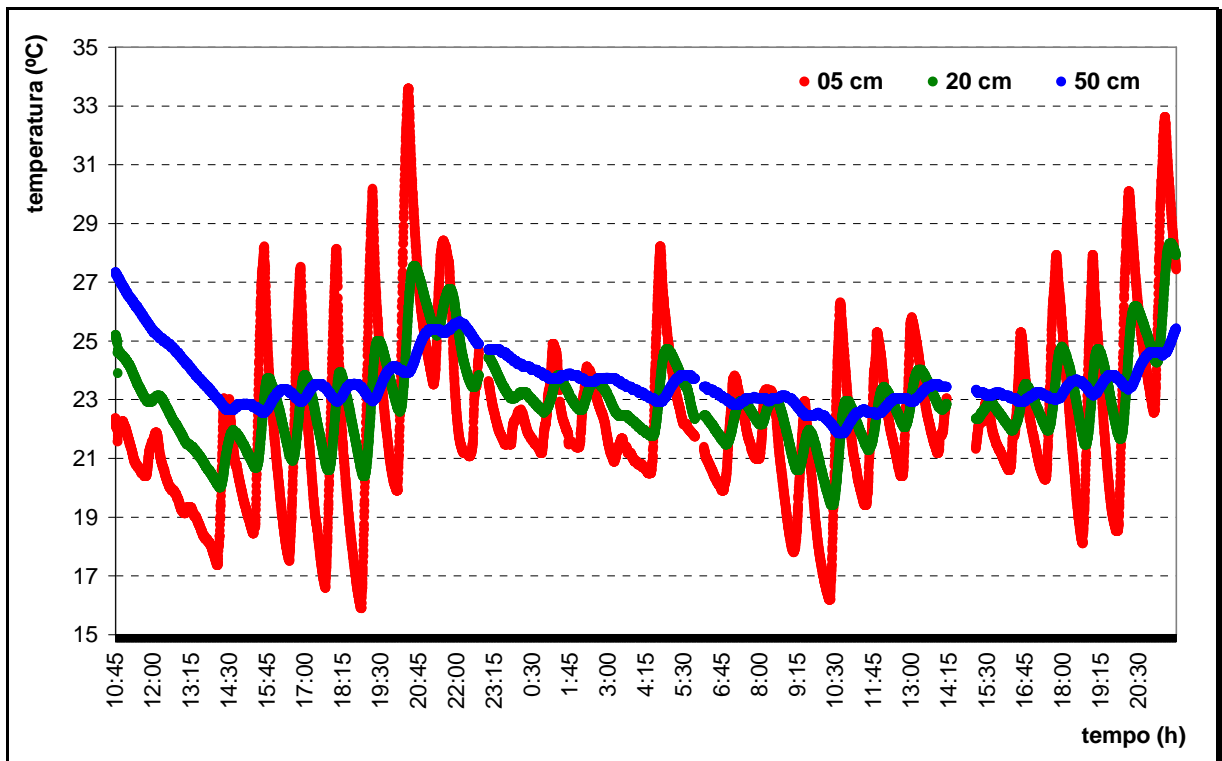


FIGURA 5.41. Variação da temperatura do solo durante o mês de outubro de 2004.

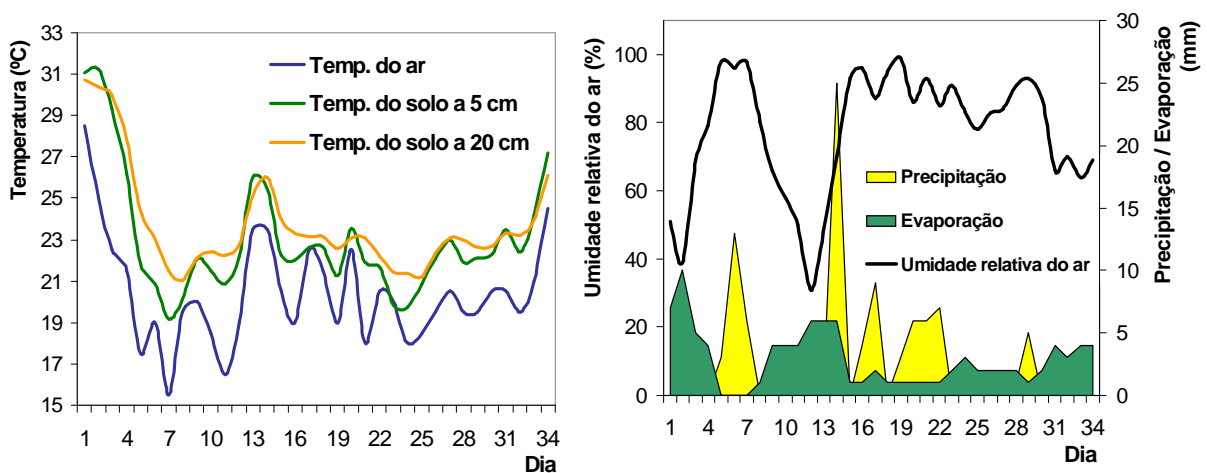


FIGURA 5.42. Dados meteorológicos coletados durante o mesmo período de estudo da sonda.

Após a demonstração das variações climatológicas sob as quais o solo em estudo esteve submetido, passa-se agora à demonstração dos resultados obtidos pelos sensores íon-seletivos durante o monitoramento dos nutrientes N, P e K. As Figuras 5.43 a 5.45 mostram a aquisição de dados durante os três primeiros

dias do experimento para o conjunto de sensores localizado a 5, 20 e 50 cm de profundidade, respectivamente.

Observa-se que os valores de potencial apresentam comportamento cíclico relacionado ao ciclo solar durante o dia. Mas especificamente, esse comportamento está relacionado com as variações da temperatura do solo resultantes do ciclo solar diário. A influência da temperatura se mostra mais pronunciada nos sensores instalados na superfície (5 cm), com maiores variações do potencial, do que nos instalados a 20 cm. Os sensores localizados a 50 cm quase não percebem essa influência, já que a essa profundidade a temperatura permanece praticamente constante.

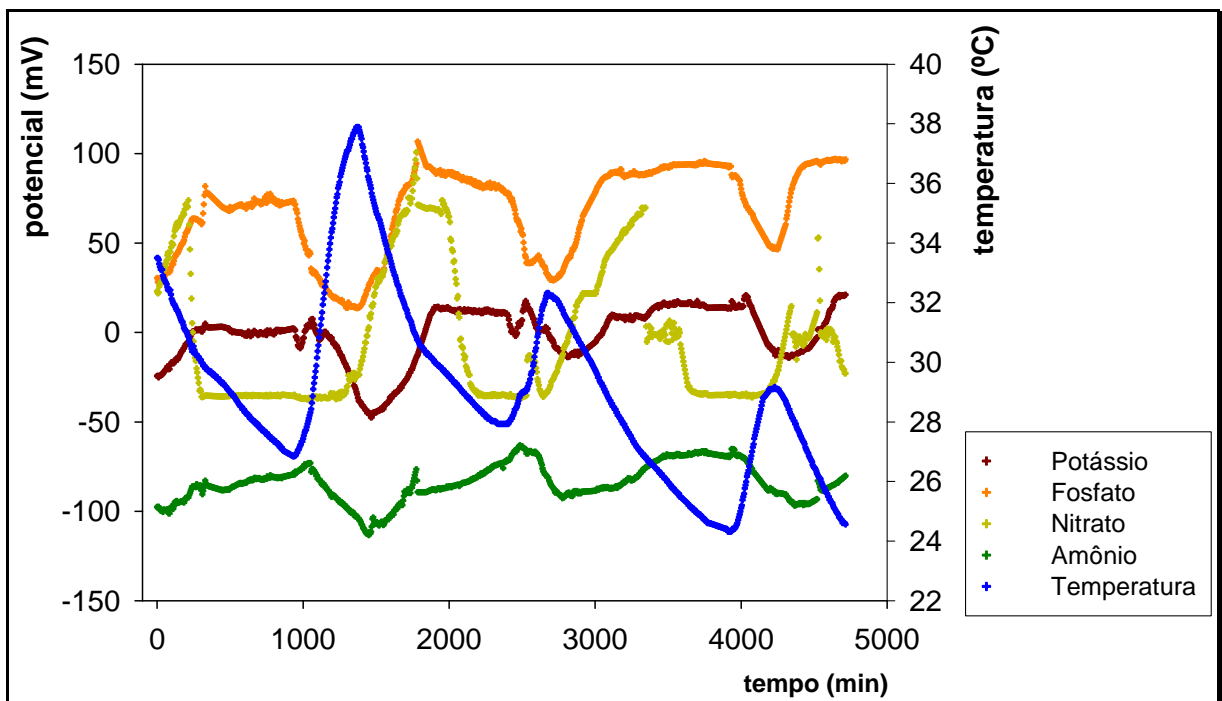


FIGURA 5.43. Respostas do conjunto de sensores situados a 5 cm de profundidade (superfície do solo) durante os três primeiros dias do experimento.

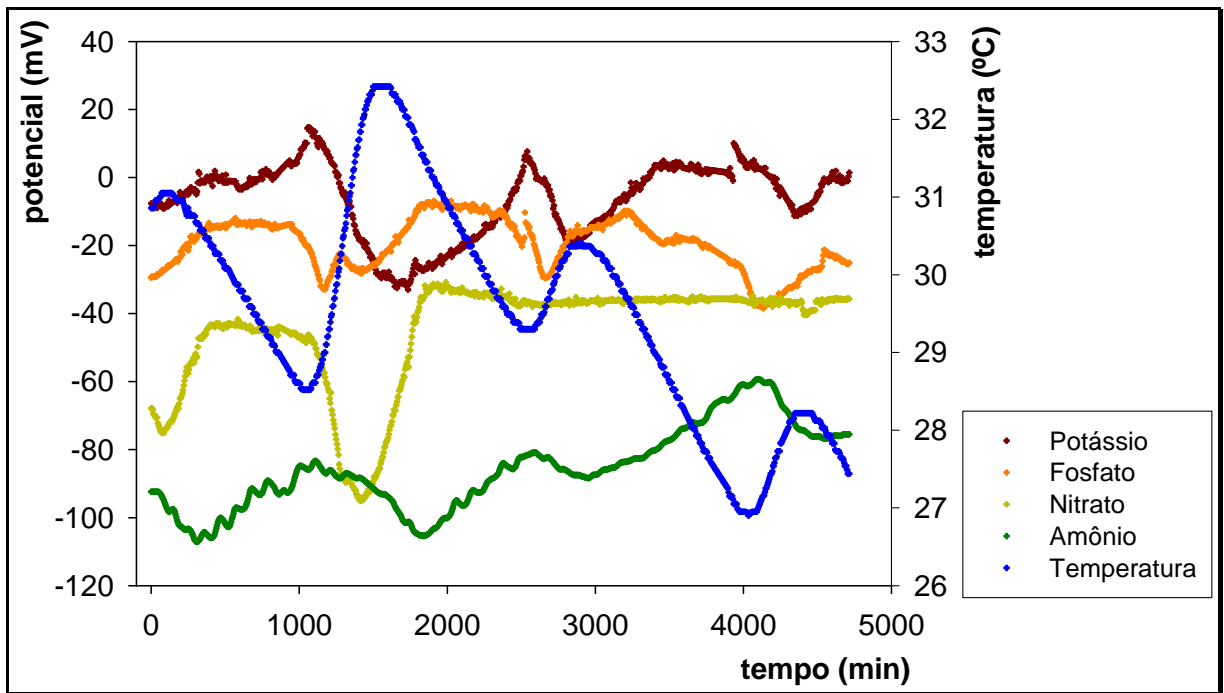


FIGURA 5.44. Respostas do conjunto de sensores situados a 20 cm de profundidade durante os três primeiros dias do experimento.

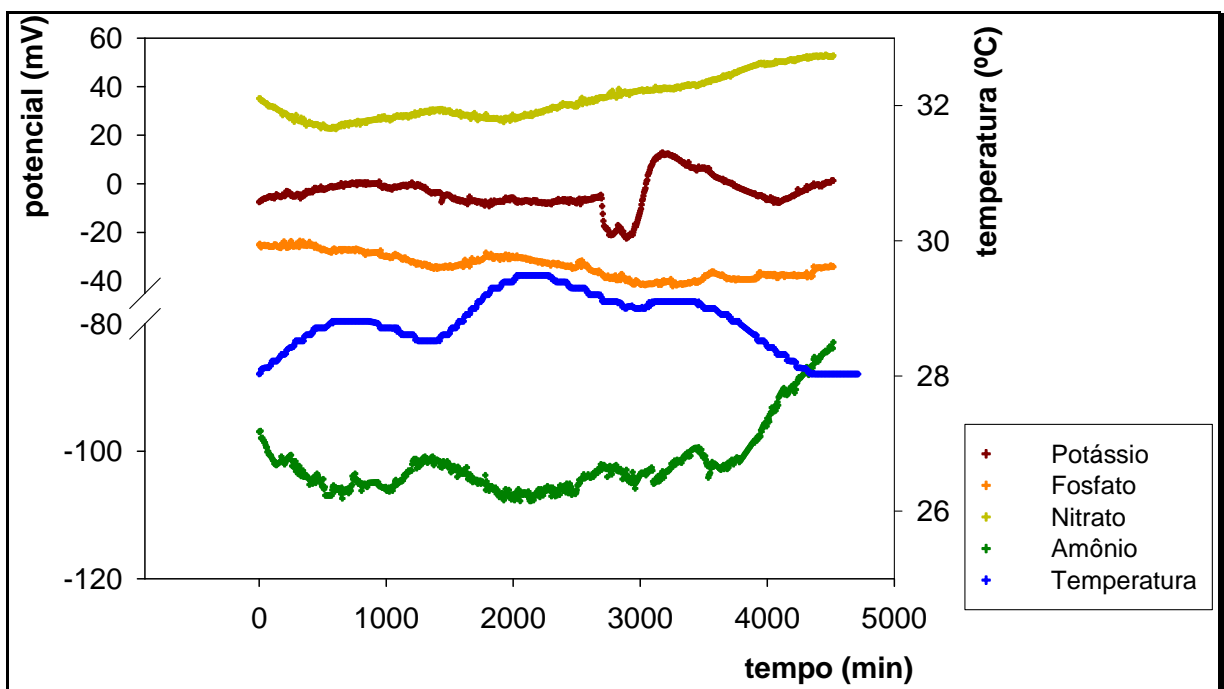


FIGURA 5.45. Respostas do conjunto de sensores situados a 50 cm de profundidade durante os três primeiros dias do experimento.

Entretanto, esse pretense ciclo possui características muito peculiares. A 5 cm, o ciclo de potencial não segue estritamente o mesmo comportamento do ciclo

de temperatura, ou seja, com picos e vales bem definidos. Na verdade, o ciclo não é inteiramente completo. Quando a temperatura chega ao seu máximo, o potencial alcança o valor mínimo. Mas, antes que a temperatura alcance o seu valor mínimo, o potencial atinge um patamar constante, mesmo com a temperatura continuando a diminuir progressivamente. Há uma defasagem de 90 a 150 minutos entre o momento em que a temperatura atinge o valor máximo e o momento em que o potencial atinge o valor mínimo, para os sensores a 5 cm, com exceção do sensor para P.

A 20 cm, o comportamento é semelhante ao da camada superior. Ou seja, quando a temperatura chega ao seu máximo, o potencial também alcança o valor mínimo proporcional. Entretanto, aparentemente não há o alcance de um patamar constante. Isso pode acontecer devido ao fato que não há a defasagem entre a hora em que a temperatura atinge o valor máximo e o potencial atinge o valor mínimo, encontrado para a camada superior do solo. A exceção a isso parece ser novamente o sensor para P, que possui seu ciclo antecipado ao ciclo da temperatura.

A 50 cm não houve comportamento semelhante ao da camada superior, ou seja, dependente da temperatura. A variação de temperatura apresentou apenas flutuações nos seus valores, mas aparentemente, ainda cíclicos. Já o potencial apresentou comportamento aleatório e independente da temperatura. O sensor para detecção de NH_4^+ parece ser o único que demonstra alguma variação inter-relacionada com a temperatura. Dessa forma, para efeito de simplificação das discussões apresentadas a seguir, as mesmas estarão apenas relacionados às camadas superiores do solo (5 e 20 cm), porém podendo ser estendidas de alguma forma ao que acontece a profundidade de 50 cm. As figuras 5.46 a 5.53 demonstram a influência da temperatura sobre os sensores em dois momentos distintos dos experimentos, em duas diferentes profundidades (5 e 20 cm).

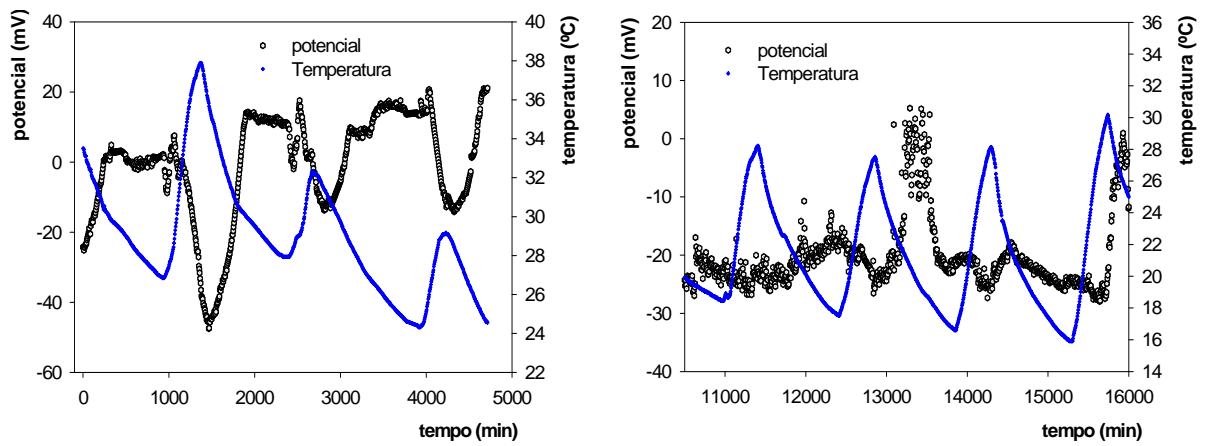


FIGURA 5.46. Influência da temperatura no sensor de K^+ situado a 5 cm de profundidade durante o experimento.

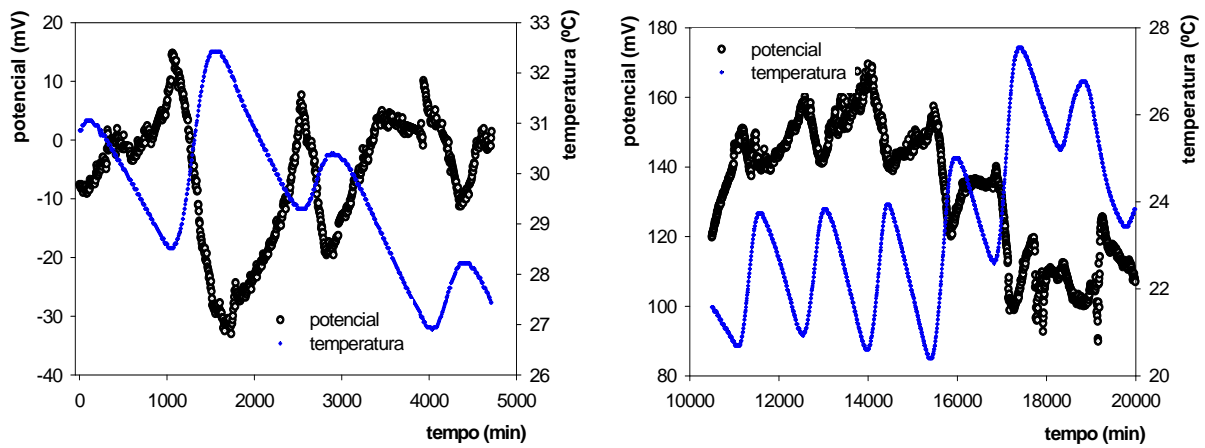


FIGURA 5.47. Influência da temperatura no sensor de K^+ situado a 20 cm de profundidade durante o experimento.

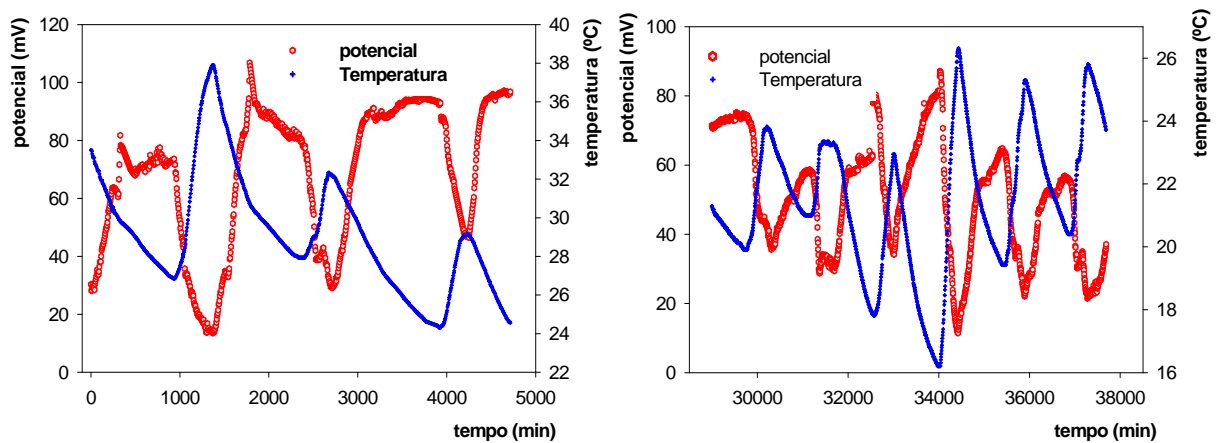


FIGURA 5.48. Influência da temperatura no sensor de P situado a 5 cm de profundidade (superfície do solo) durante o experimento.

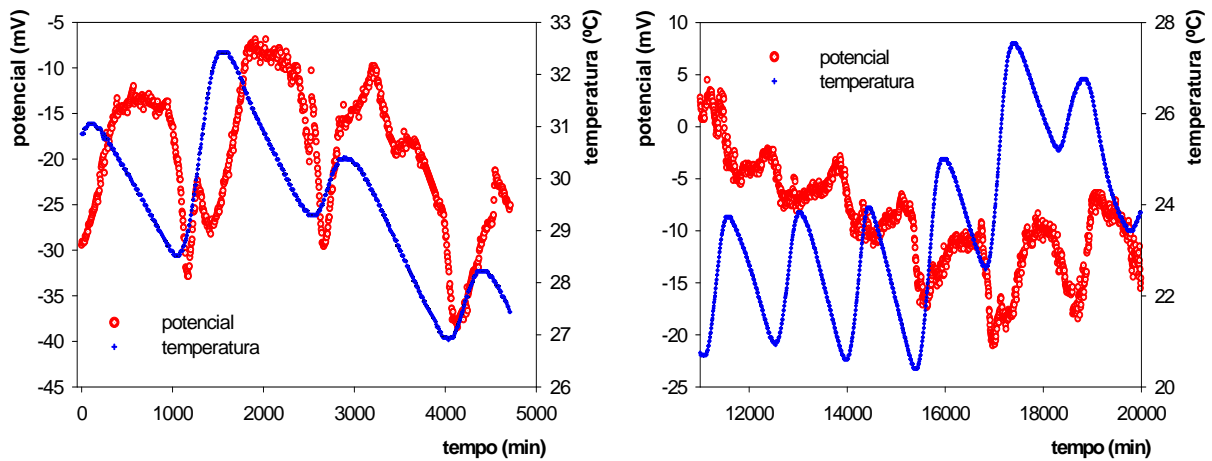


FIGURA 5.49. Influência da temperatura no sensor de P situado a 20 cm de profundidade durante o experimento.

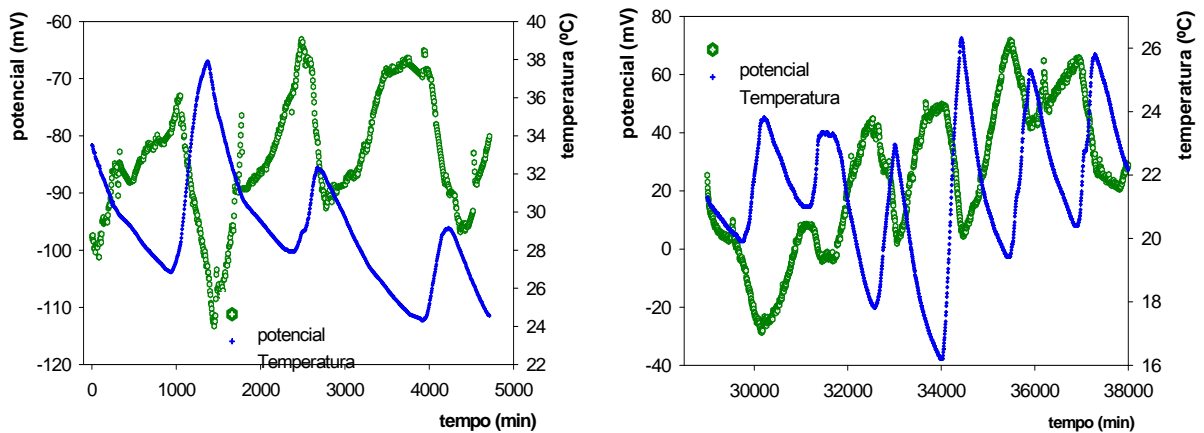


FIGURA 5.50. Influência da temperatura no sensor de NH_4^+ situado a 5 cm de profundidade (superfície do solo) durante o experimento.

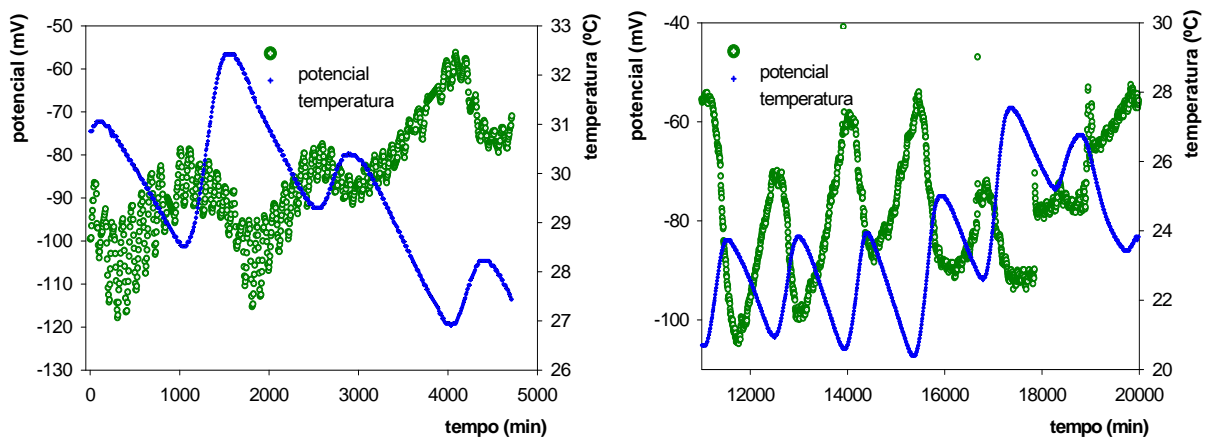


FIGURA 5.51. Influência da temperatura no sensor de NH_4^+ situado a 20 cm de profundidade durante o experimento.

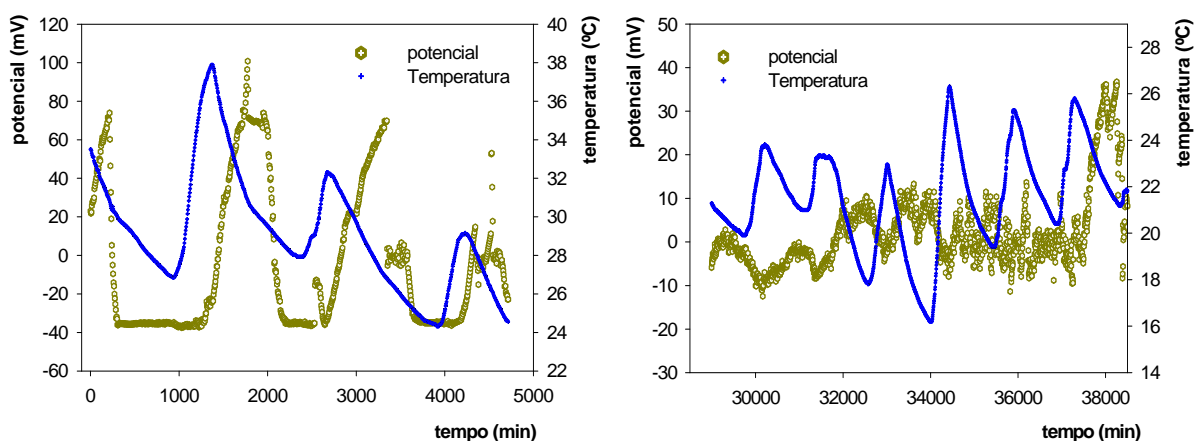


FIGURA 5.52. Influência da temperatura no sensor de NO_3^- situado a 5 cm de profundidade (superfície do solo) durante o experimento.

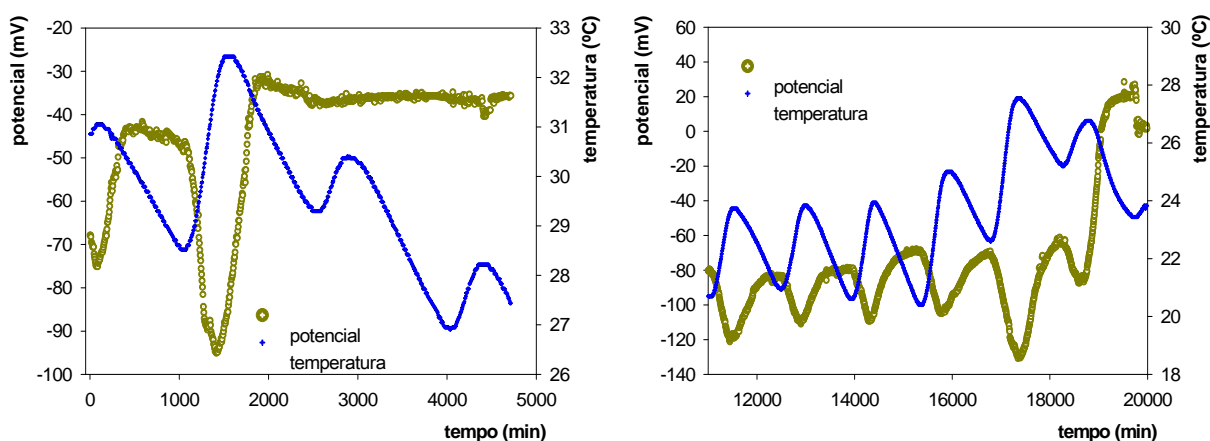


FIGURA 5.53. Influência da temperatura no sensor de NO_3^- situado a 20 cm de profundidade durante o experimento.

À primeira vista, poder-se-ia pensar que a resposta dos sensores seria apenas um reflexo da influência da temperatura do solo sobre o potencial. Entretanto, um exame do funcionamento dos sensores íon-seletivos baseados em compósito epóxi-grafite revela que tal influência direta é pequena, como descrito a seguir, adaptado do trabalho de MACHADO (1994).

Os vários estudos sobre os efeitos da temperatura na resposta dos eletrodos íon-seletivos (ISE) cobrem uma faixa de temperatura de 10-60 °C e incluem as curvas de calibração para avaliação das faixas operacionais, determinação dos potenciais padrão, coeficientes de temperatura e pontos isotenciais. Também incluem a avaliação das curvas de histerese e determinação

dos tempos de estabilização a diferentes temperaturas. Como conclusão, observa-se que o efeito da temperatura na resposta de um ISE é intrinsecamente muito complexo.

A resposta de uma cela isotérmica que inclui um ISE é descrita como:

$$E = E_{const} + s \log(a_x + K_{x,y} a_y + \dots) \quad (1)$$

onde E_{const} (mV) inclui o potencial padrão do ISE, o potencial do eletrodo de referência e os potenciais das junções líquidas; s (mV por década) é o coeficiente angular, o qual para a resposta nernstiana é dado por:

$$s = 2,303 RT/nF = (k/n)T \quad (2)$$

com n sendo a carga do íon primário, X , a_x e a_y (mol L^{-1}) são as atividades do íon primário, X , e do íon interferente, Y (assumindo-se que tenha mesma carga do íon primário, para simplificação), respectivamente e $K_{x,y}$ é o coeficiente de seletividade potenciométrico. Assim, a influência da temperatura na resposta pode ser demonstrada pela diferenciação da equação (1) com relação à temperatura:

$$dE/dT = dE_{const}/dT + (k/n) \log(a_x + K_{x,y} a_y + \dots) + (k/n)T \{1/[2,3(a_x + K_{x,y} a_y + \dots)]\} [da_x/dT + K_{x,y} da_y/dT + a_y dK_{x,y}/dT + \dots] \quad (3)$$

O primeiro termo da equação (3), dE_{const}/dT , inclui contribuições do eletrodo de referência, dos potenciais de junção líquida e do eletrodo de trabalho. O segundo termo define o coeficiente angular da temperatura, o qual para uma resposta nernstiana é dado por:

$$ds/dT = k/n = 0,1984/n \quad (4)$$

De acordo com esta expressão, uma variação de 1 mV por década é esperada para cada 5 °C de variação da temperatura para um íon monovalente (ou 10 °C para um íon divalente). O último termo da equação (3) é muito complexo e envolve derivadas de vários tipos, sendo de interesse estritamente teórico, uma vez que os valores dos seus parâmetros são pequenos e geralmente ignorados.

Assim, na prática, os únicos termos que realmente sofrem a influência da temperatura são o potencial padrão (termo 1) e o coeficiente angular (equação 4). Agora, voltemos a observar o que ocorre com os sensores da sonda analítica. Verifica-se que a variação dos potenciais com a temperatura é muito maior do que a prevista pela equação (4). Assim, devem existir outras origens dessa grande variação dentro do sistema analítico sonda-solo. Analisemos algumas delas.

Primeiramente, com relação à equação (3), verifica-se que além do termo correspondente ao coeficiente angular da temperatura, o qual apresenta uma

variação mínima com a temperatura como descrito anteriormente, há também o termo relacionado às contribuições oriundas do eletrodo de referência, dos potenciais de junção líquida e do eletrodo de trabalho. Mesmo se houvesse junção líquida, a influência da temperatura nos potenciais é desprezível (menor que $0,03 \text{ mV K}^{-1}$). Com relação ao eletrodo de referência, a literatura mostra que os mesmos trabalham numa ampla faixa de temperatura e possuem tempos de estabilização relativamente pequenos e baixa histerese (MACHADO, 1994). Entretanto, esses estudos foram realizados para os eletrodos mais comumente utilizados, como o Ag–AgCl e o de calomelano. Como o eletrodo de referência utilizado na sonda foi uma placa de cobre, poderiam surgir algumas dúvidas quanto à eficiência deste tipo de material.

Nas condições típicas do solo, ambiente úmido e presença de gás carbônico, as espécies termodinamicamente mais estáveis são o Cu^{2+} , CuO_2 e $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2$, espécies responsáveis pelo recobrimento esverdeado na placa de cobre. Este recobrimento aparece após algumas horas e estabiliza o potencial gerado pelo eletrodo, sendo que ao fim de dois dias esse potencial pode ser considerado constante (ARTIGAS, 2003). Estudos de comparação realizados entre um eletrodo de cobre e um eletrodo comercial (ORION 90-00-02) demonstraram comportamentos semelhantes para ambos eletrodos nas mais diversas condições de laboratório e em solo, atestando a qualidade do eletrodo de cobre como referência potenciométrico (ARTIGAS, 2003).

Assim, pode-se dizer que o eletrodo de referência utilizado não seria fonte das grandes diferenças de potencial causadas pela variação da temperatura do solo. Uma outra característica das respostas encontradas que confirma isso seriam as desigualdades entre as diferenças de potencial proporcionadas pela mesma variação de temperatura para os quatro sensores a uma mesma profundidade. Ou seja, se houvesse uma contribuição somente do eletrodo de referência a variação do potencial seria a mesma para todos os eletrodos. Resta ainda avaliar a contribuição do eletrodo de trabalho e também da instrumentação eletrônica associada.

Os eletrodos de trabalho utilizados foram quatro, dois para cátions e dois para ânions. Dos analitos estudados, a única espécie divalente é o HPO_4^{2-} , responsável pela detecção do P do solo. Os analitos restantes, N e K, foram detectados através de suas espécies monovalentes (K^+ , NH_4^+ e NO_3^-). Os eletrodos foram submetidos à variação da temperatura através de duas formas: a) utilização

de algodões embebidos com água destilada à temperatura ambiente e a 60 °C ou, (b) colocação da sonda no tubo de PVC preenchido com solo lavado, onde se fez passar através do perfil do solo um fluxo contínuo de água a 50 °C. Ambas as situações produziram resultados semelhantes, os quais são demonstrados nas Figuras 5.54 a 5.56.

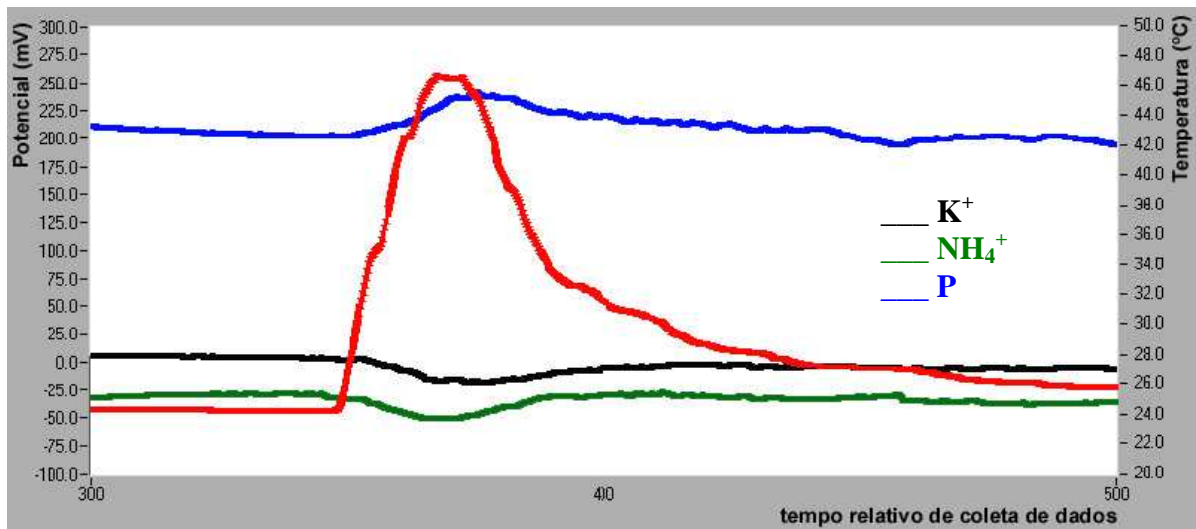


FIGURA 5.54. Influência da temperatura resultante da passagem de um fluxo contínuo de água através do perfil de um solo lavado.

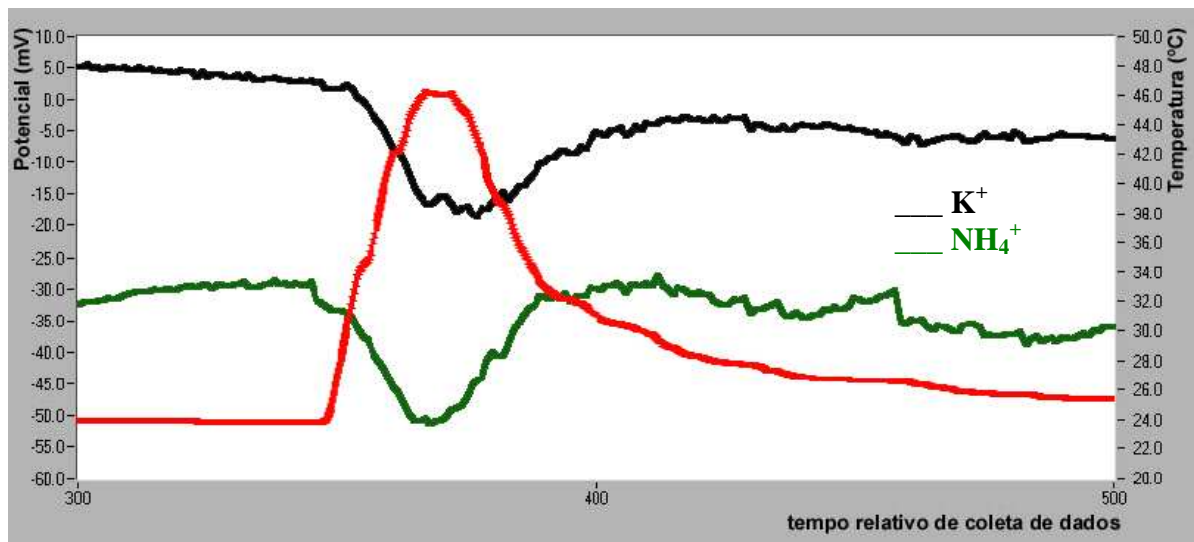


FIGURA 5.55. Influência da temperatura resultante da passagem de um fluxo contínuo de água através do perfil de um solo lavado. Resultados para NH_4^+ e K^+ .

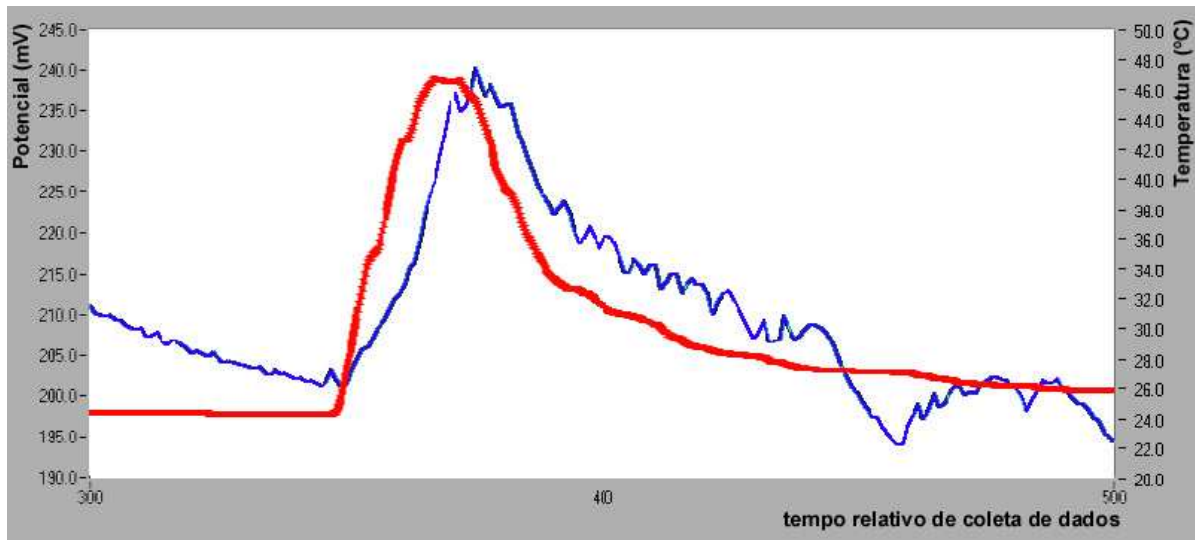


FIGURA 5.56. Influência da temperatura resultante de um fluxo contínuo de água através do perfil de um solo lavado. Resultados para P (HPO_4^{2-}).

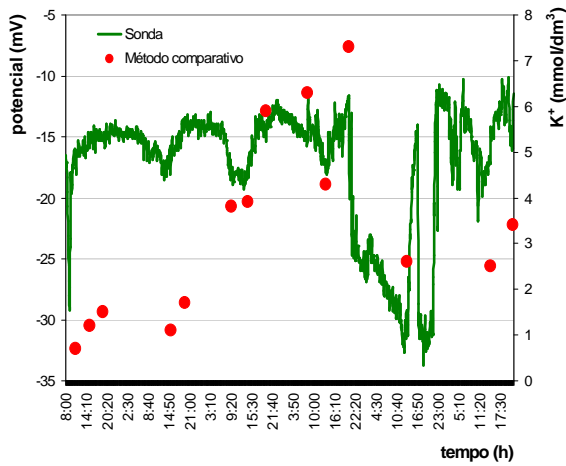
Observa-se que para os cátions o potencial diminui quando a temperatura aumenta, diferentemente do que acontece para os ânions, com o aumento do potencial (resultados para NO_3^- não demonstrados). Ambos os resultados simulam uma diminuição da concentração dos nutrientes proporcional à temperatura. Para os íons monovalentes houve uma variação em torno de 20 mV, enquanto que para o fosfato houve uma variação de 40 mV, o que dá uma sensibilidade de 0,8696 e 1,7391 $\text{mV } ^\circ\text{C}^{-1}$. Entretanto, os resultados obtidos pela mesma sonda em campo revelam que as variações de potencial proporcionadas pela variação da temperatura além de serem muito maiores, apresentam comportamento inverso para os ânions, com a diminuição do potencial (figuras 5.46 a 5.53). Tais resultados indicam que deve haver algum fator adicional que também seja influenciado pela variação da temperatura, provavelmente o próprio solo, cuja disponibilidade de nutrientes em sua solução aquosa é dependente da temperatura.

Assim, foram realizadas amostragens do solo durante o decorrer do dia para avaliação dos estados nutricionais do mesmo e verificação de uma possível influência da temperatura na disponibilidade dos nutrientes. As amostragens foram feitas nas horas do dia com menor e maior temperatura (7:00 e 14:00, respectivamente) e em horas de temperatura intermediária. Nas amostras foram realizadas análises de NH_4^+ , NO_3^- , K^+ e P por metodologia padrão de comparação. As figuras 5.57 a 5.59 demonstram a evolução dos potenciais frente à mudança da

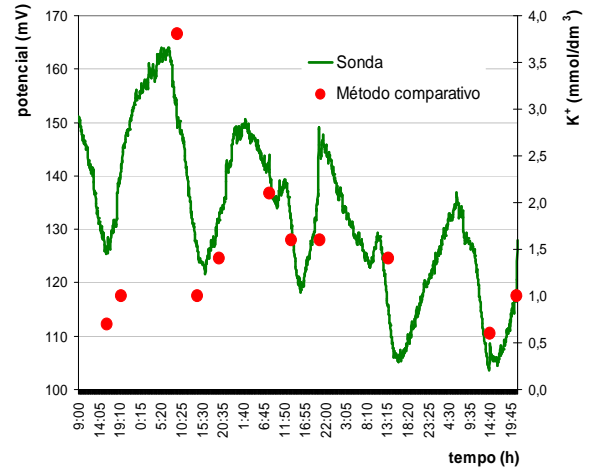
concentração dos nutrientes no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação.

Algumas características comuns em todas as figuras podem ser enumeradas. Primeiramente, verifica-se o comportamento cíclico dos nutrientes tal como observado pelos eletrodos íon-seletivos. Não só a variação cíclica diária, mas também, a variação global dentro do experimento, melhor demonstrada para os sensores de P e NH_4^+ . No entanto, a 5 cm esse comportamento é um pouco irregular, ou seja, os potenciais observados em um determinado momento do experimento não se ajustam ao comportamento apresentado pelos nutrientes. Esse momento de desajuste se mostra sempre nos primeiros dias de coleta. Após isso, parece que o sensor começa a “enxergar” o que acontece com os nutrientes no solo. Possivelmente, a diferença entre os dois momentos esteja relacionada a diferenças no teor de umidade do solo. Além disso, a variação das concentrações dos nutrientes nessa camada é muito grande. Tal variação é decorrente do processo de amostragem dessa camada de solo, o qual é problemático e irreprodutível. A variação é muito menor e, por consequência, mais realista, nos resultados apresentados para as análises da camada de 20 cm do solo, a qual possibilita uma amostragem reproduzível e consistente.

A Figura 5.60 mostra a relação entre os valores de concentração determinados pelo método de comparação e os valores de potencial para o sensor de K^+ a 5 cm. Verifica-se que há a formação de dois grupos, onde ambos indicam o aumento do potencial com a concentração, como esperado. Uma análise dos valores de umidade mostra a condição que apresenta maior sensibilidade possui menor teor de umidade no solo, entre 11% e 15%. Já a condição de menor sensibilidade apresenta maiores teores de umidade entre 16% e 20%. A influência da umidade do solo na resposta dos sensores já havia sido apresentada no desenvolvimento da sonda para análise de Ca^{2+} e NO_3^- no solo.

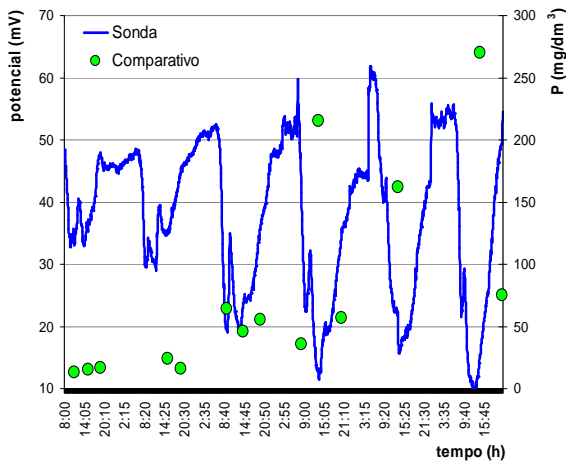


(a)

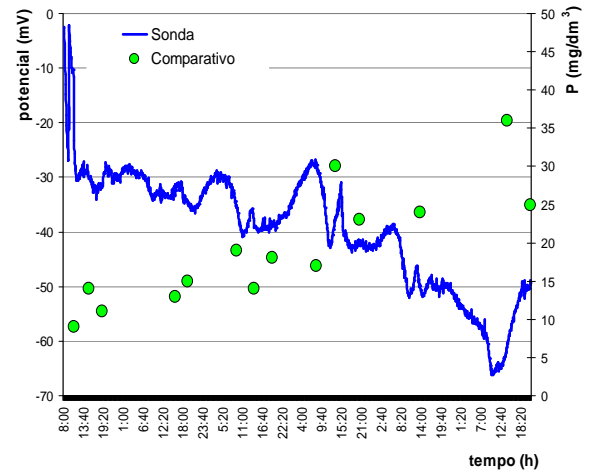


(b)

FIGURA 5.57. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de K^+ no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação. (a) sensor a 5 cm de profundidade; (b) sensor a 20 cm de profundidade.



(a)



(b)

FIGURA 5.58. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de P no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação. (a) sensor a 5 cm de profundidade; (b) sensor a 20 cm de profundidade.

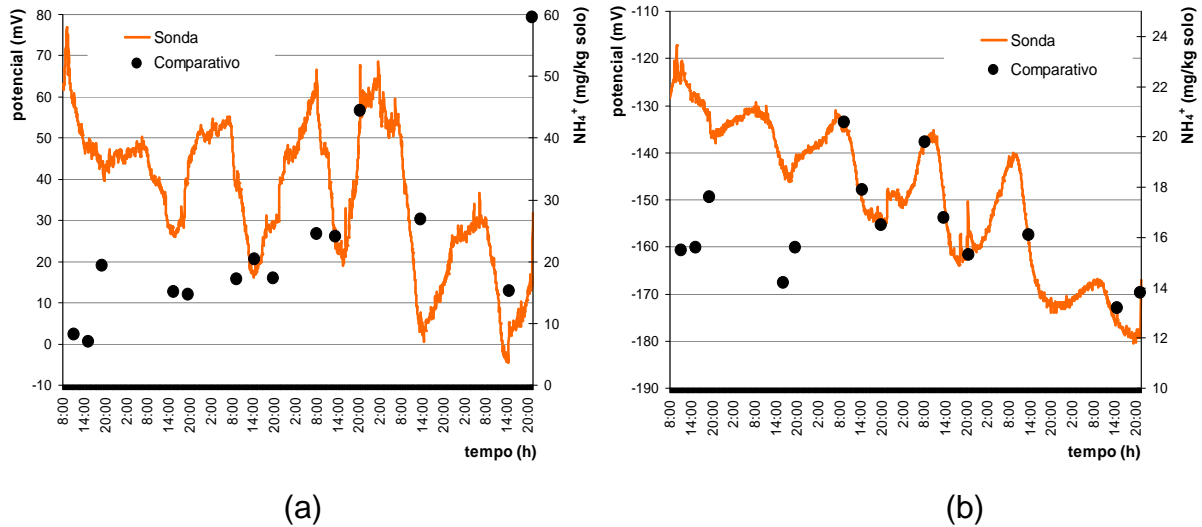


FIGURA 5.59. Evolução dos potenciais frente à mudança da concentração de NH_4^+ no solo e comparação com metodologia comparativa de determinação. (a) sensor a 5 cm de profundidade; (b) sensor a 20 cm de profundidade.

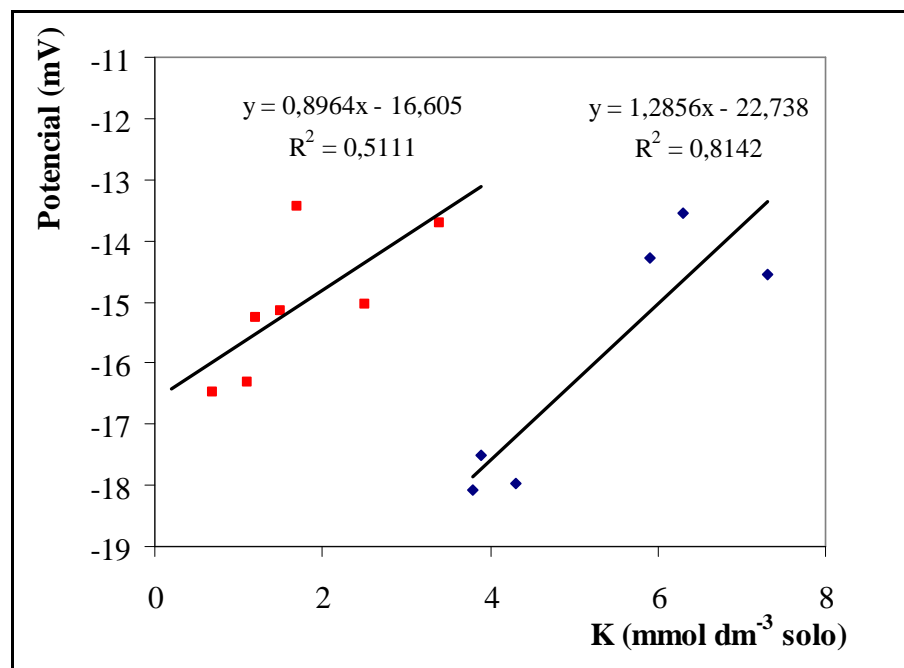


FIGURA 5.60. Relação entre a concentração de potássio no solo e o potencial gerado pelos sensores a 5 cm. Legenda: vermelho: teor de umidade entre 16 e 20%; azul: teor de umidade entre 11 e 15%.

Como a 20 cm, a variação da umidade do solo é bem menor, há uma melhor concordância entre os perfis de potencial que são apresentados pelos eletrodos e os valores gerados pelo método comparativo de análise. A essa

profundidade a variação cíclica das concentrações dos nutrientes é bem menor que aquela que ocorre a 5 cm, à exceção do K^+ . Outra característica comum é o fato de que a variação de potencial provocada pela mudança de concentração é diferente a 5 cm e a 20 cm. Ou seja, a 20 cm a sensibilidade é bem maior que a encontrada para os eletrodos instalados a 5 cm, a qual pode estar relacionada também ao teor de umidade no solo, uma vez que a essa profundidade o teor de umidade é geralmente maior que a 5 cm, como demonstrado anteriormente. Esta característica já havia sido destacada para análise de K^+ , Ca^{2+} e pH.

A composição da solução do solo é o resultado de processos complexos: (i) a introdução de elementos através da chuva e fenômenos atmosféricos, (ii) a produção interna de elementos através da mineralização da matéria orgânica e exposição às intempéries, (iii) o complexo equilíbrio de troca iônica, e (iv) as perdas através do seqüestro (raízes e microbiota) e lixiviação. A intensidade de cada processo depende de muitos fatores (profundidade do solo, mobilidade das soluções, etc.) e os mecanismos individuais são difíceis de serem identificados devido às interações entre eles (LACLAU et al., 2003).

Muitos trabalhos na literatura têm tentado elucidar os fenômenos que regulam a composição da solução do solo e os fatores que a determinam. Entretanto a maioria deles trata do estudo de solos de florestas de clima temperado, objetivando o entendimento que as mudanças climáticas predominantes podem acarretar na qualidade do solo, principalmente o aumento da temperatura do planeta. A grande preocupação dos ambientalistas refere-se a mineralização crescente do solo como resposta a uma futura mudança global. Atualmente, há um consenso geral sobre a variabilidade temporal química da composição da solução do solo. No entanto, grande parte das pesquisas engloba a avaliação de dados anuais ou, no máximo mensais. Raros são os trabalhos que se preocupam com o acompanhamento da variabilidade temporal química do solo em um nível mais detalhado.

Com relação à variação cíclica encontrada nos resultados da sonda analítica para o solo em estudo, podem-se observar as seguintes hipóteses relacionadas ao aumento da temperatura: (1) diminuição da concentração de NH_4^+ ; (2) aumento da concentração de NO_3^- ; (3) aumento da concentração de P; (4) diminuição da concentração de K. Para melhor compreensão dos resultados

expressados pela sonda analítica, veremos o que a literatura trata a respeito da influência da temperatura sobre a composição química da solução do solo.

Em relação à dinâmica do N, a mineralização da matéria orgânica do solo exerce grande influência sobre a oferta do mesmo no solo. Uma melhor compreensão da mineralização do N orgânico do solo é crucial para a otimização do suprimento de N aos cultivos ao mesmo tempo em que minimiza perdas ao ambiente. A mineralização é em grande parte microbiana e influenciada pelos mesmos fatores ambientais que governam a atividade microbiana em geral no solo. Os principais fatores reguladores são temperatura, umidade do solo e compactação do solo (através do seu efeito sobre a distribuição da porosidade e aeração do solo). Dos fatores mencionados acima, a temperatura do solo é a mais importante em climas temperados e frios e úmidos (NEVE et al., 2003). A mineralização máxima do N normalmente ocorre quando a temperatura do solo está entre 25 e 35°C (NICOLARDOT et al., 1994; STARK e FIRESTONE, 1996) e a umidade do solo está próxima à capacidade de campo (STANFORD e EPSTEIN, 1974).

INESON e colaboradores (1998) monitoraram a temperatura de três tipos diferentes de solo, em quatro profundidades, durante dois anos e obtiveram dados similares do comportamento da dinâmica do N. Os experimentos de aquecimento do solo resultaram no aumento da decomposição e mineralização da matéria orgânica do solo e estimulação da produção de N inorgânico. Entretanto, os resultados devem ser balanceados com o fato de que há um aumento na atividade fotossintética experimentada sob temperaturas do ar mais quentes levando a um maior crescimento das plantas.

Em outro estudo da mesma série, os mesmos pesquisadores sugerem novamente que qualquer aumento da decomposição e liberação de nutrientes em resposta ao aquecimento será mascarada pela retirada dos mesmos a partir das plantas. Embora aumentos significativos nas taxas de denitrificação tenham sido observados, a redução na lixiviação de nitrato foi muito maior para ser explicada somente por perdas por denitrificação, e deve-se assumir que a retirada pelas plantas foi a causa da redução. Houve um aumento geral na concentração de nitrato encontrado para os experimentos que envolveram aquecimento do solo e ausência de cobertura vegetal do solo (INESON et al., 1998).

FITZHUGH e colaboradores (2003) estudaram a retenção de nitrogênio pela matéria orgânica do solo. Os objetivos primários deste estudo foram comparar a

imobilização de amônio, nitrito e nitrato entre solos desenvolvidos sob diferentes espécies de árvores nas montanhas Catskill, Estados Unidos, e determinar os papéis relativos dos processos bióticos ou abióticos na retenção de N em solo. Entre as hipóteses levantadas pelos pesquisadores estão: (i) a imobilização de NH_4^+ e NO_3^- aconteceria predominantemente por processos bióticos e (ii), imobilização abiótica de NO_2^- maior que NH_4^+ e NO_3^- e (iii) consumo preferencial de NH_4^+ proporcionalmente ao NO_3^- . O consumo de NH_4^+ em solos vivos teve início significativo 1 dia após a sua adição ao solo, sendo esta imobilização provavelmente microbiana e, o consumo de NO_3^- em solos vivos só se tornou apreciável 28 dias depois da adição.

Em seus estudos em solos de florestas boreais KEWILLE e WRIGHT (1997) observaram que o aumento da temperatura resultou no aumento do N liberado, o qual aparece com concentrações significativamente maiores de nitrato e amônio. O aquecimento do solo estimula a decomposição e mineralização da matéria orgânica e então libera N e outros nutrientes. Os resultados de experimentos de incubação reportados por FLOATE (1970) com temperaturas e níveis de umidade aplicáveis a situações de campo, indicam que a temperatura, mais que a umidade do solo, controla a taxa de mineralização de N e P de materiais orgânicos de plantas e animais. Outras pesquisas também destacam a possibilidade do aumento da decomposição e mineralização da matéria orgânica com o aumento da temperatura (VAN CLEVE et al., 1990; VERBURG et al., 1999; JOSLIN e WOLFE, 1993; SCHMIDT et al., 2004; PETERJOHN et al., 1994).

Mas a literatura que trata da relação entre a composição química da solução do solo e a variação da temperatura é um tanto quanto contraditória. Existem trabalhos que reportam a falta de relação, enquanto há outros que reportam o aumento da mineralização da matéria orgânica e concentração e nutrientes com a diminuição da temperatura. MENEZES e colaboradores (2002), que estudaram a dinâmica de nutrientes em um sistema silvopastoral no semi-árido do nordeste do Brasil, observaram que não só a mineralização do nitrogênio como as concentrações de outros nutrientes em amostras do solo foi maior ($P < 0,10$) sob as copas das árvores de *Z. joazeiro* em comparação as áreas plantadas de *C. ciliaris*, principalmente devido ao aumento líquido na quantidade de nitrato no solo, com a exceção do P extraível pela resina. A temperatura máxima diária do solo era, em

média, $16,0 \pm 0,6$ °C menor debaixo das copas das árvores de *Z. joazeiro*, em comparação a *C. ciliaris*, ao longo do período de medida.

Já LACLAU e colaboradores (2003) observaram uma tendência geral para concentrações mais altas de nutrientes na solução do solo durante os primeiros meses depois da estação seca, mas diferenças foram pequenas e não sistemáticas. JONASSON e colaboradores (1993 e 1996) não encontraram nenhum efeito do aquecimento artificial do solo sobre a dinâmica do N em sistemas subárticos da Suécia. ROBINSON e colaboradores (1995) também não observaram nenhum efeito do aquecimento do solo na mineralização do N em semideserto alto-ártico e sistemas de brejo subártico da Suécia; e HANTSCHHEL e colaboradores (1995) observaram que o aumento da temperatura do solo não provocava nenhum efeito nos reservatórios de N solúvel em um agroecossistema na Alemanha. JOSLIN e JOHNSON (1998) revisaram uma variedade de estudos de aquecimento de solo e concluíram que embora quase sempre o aquecimento causa um aumento na taxa de decomposição, o mesmo pode resultar em uma de várias respostas diferentes na mineralização e lixiviação de N: (1) aumento da imobilização de N devido à crescente decomposição de matéria orgânica com alta relação C/N; (2) nenhuma mudança na disponibilidade de N; (3) aumento da disponibilidade de N mas nenhum aumento da nitrificação ou lixiviação de NO_3^- ; (4) aumento da disponibilidade de N, N foliar e crescimento da planta, mas ainda nenhuma mudança na lixiviação de NO_3^- ; (5) aumento da disponibilidade de N e lixiviação de NO_3^- ; ou (6) aumento da disponibilidade de N, NO_3^- lixiviado e mobilização de Al em solo ácido.

Em vista do que foi exposto anteriormente, pode-se tecer algumas considerações a respeito do comportamento do N na solução do solo resultante da observação dos resultados da sonda analítica. Observa-se que decorrente do aumento da temperatura ocorre a diminuição da concentração de NH_4^+ e aumento da concentração de NO_3^- . O aumento da concentração de NO_3^- pode ser esperado, como discutido anteriormente, embora o mesmo não fosse esperado para a concentração de NH_4^+ . Entretanto, o solo monitorado não apresentava utilização para cultivo nem cobertura vegetal que pudesse realizar a imobilização, ou mesmo utilização do NH_4^+ que representasse a sua diminuição em temperaturas mais altas. Assim, a perda de NH_4^+ do solo a temperaturas altas pode estar relacionada à imobilização microbiana, como destacado por FITZHUGH e colaboradores (2003), ou pela conversão do NH_4^+ a NO_3^- , o qual possui menor taxa de fixação pela

biomassa microbiana. Com respeito a essa última hipótese, NEVE e colaboradores (2003) observaram que durante seus estudos as concentrações de NH_4^+ foram razoavelmente constantes e sempre menores que $0,7 \text{ mg N kg}^{-1}$ solo, mesmo a temperaturas extremas, mostrando que a temperatura não limita a nitrificação a qualquer tempo, e a amonificação foi a etapa limitante da produção de NO_3^- da matéria orgânica do solo.

Assim como o N, o comportamento do P apresenta relação direta com o aumento da temperatura, estando diretamente ligado à atuação da massa microbiana do solo e a mineralização da matéria orgânica. Exemplos incluem o trabalho de MENEZES e colaboradores (2002) e o OEHL e colaboradores (2001). No primeiro os autores encontraram maiores concentrações médias de P em solos do nordeste brasileiro com pouca cobertura vegetal, ou seja, que apresentam maiores valores médios da temperatura do solo. No segundo, os autores realizaram um estudo de isótopos de P sob condições de respiração de solo e observaram que as concentrações de P microbiano e P inorgânico na solução de solo eram aproximadamente constantes, sugerindo uma troca microbiana do P.

Para o K, já se acha comprovado que, sob certas condições, congelamento e descongelamento alternados resultam na liberação do K fixado. Embora se reconheça sua importância prática, não se conhece, todavia os mecanismos de funcionamento (BRADY, 1983). Entretanto, a grande maioria dos estudos aponta para o aumento da concentração do K na solução do solo com o aumento da temperatura do mesmo (KEWILLE e WRIGHT, 1997; INESON et al., 1998). O aumento está relacionado com a mineralização da matéria orgânica e a liberação do K prontamente disponível fixado no solo. NEVE e colaboradores (2003) observaram um aumento da concentração de todos os cátions básicos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ e Na^+) na solução do solo, sendo este aumento muito mais forte em temperaturas mais altas. Não somente a concentração, mas o tipo de cátions liberados. Existe um aumento marcante na relação cátion bivalente:monovalente em função do tempo, mais pronunciada a temperaturas mais altas. O cálcio não é liberado somente por reações de troca, mas provavelmente também pela dissolução do carbonato presente no solo (NEVE et al., 2003).

AGBENIN e VAN RAIJ (1999) estudaram a desorção de Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+ de solos de carga variável com o auxílio de resinas de troca iônica. Eles observaram que o aumento da temperatura de 25°C a 60°C não aumentou consideravelmente as

taxas de desorção, assim como esperado para os processos de desorção controlados exclusivamente por reações de troca químicas. Também nesse trabalho, avaliando-se a energia de ativação envolvida nos processos de desorção, os autores encontraram de forma geral valores positivos de energia, com exceção de um solo, que apresentou energia de ativação negativa, a qual sugere a readsorção de K pelo solo devido provavelmente ao efeito da temperatura nos potenciais de superfície, na atividade iônica ou na afinidade por superfícies carregadas. Similarmente, o ΔH^* , um índice da quantidade de energia requerida para formar um complexo na superfície ativada, foi menor indicando que a reação de desorção do K nesse solo seria exotérmica. Finalmente, observou-se que há uma tendência relacionada aos ΔH^* e ΔS^* indicando energia de ligação mais forte para o K que para o Ca e o Mg, ou seja, que dos cátions básicos estudados o Ca e o Mg têm preferência nas reações de troca, assim como destacado acima por NEVE e colaboradores (2003).

Em suma, a resposta observada sobre o comportamento dos nutrientes na solução do solo estudado no experimento com a sonda analítica pode ser resultado da soma de duas fontes distintas: a atuação da temperatura sobre o sistema sensores-sonda analítica, a qual foi demonstrada ser de pequena extensão, mas importante e; a atuação da temperatura sobre a química do solo e sua solução aquosa, a qual se revelou predominante diante das grandes variações de potencial frente, às vezes, às pequenas variações de temperaturas, as quais não poderiam ser explicadas somente através da influência da temperatura sobre o sensor.

Tratamento dos Resíduos

6 – TRATAMENTO DOS RESÍDUOS

O crescimento da responsabilidade sobre o meio ambiente tem sido uma constante nos últimos anos. Atualmente, com a existência de padrões através dos quais pode-se obter um gerenciamento ambiental confiável claramente definidos na ISO 14000, gradualmente as interações entre países e companhias vão sendo reguladas por essas regras e inevitavelmente vão influenciar também no trabalho dos químicos. Como consequência, o trabalho de alguns químicos analíticos tem sido direcionado ao desenvolvimento de metodologias menos agressivas ao ambiente, onde a quantidade e a toxicidade dos resíduos são tão importantes quanto quaisquer outras características analíticas.

Uma hierarquia pode ser estabelecida quando do desenvolvimento de metodologias limpas de análise: (1) resíduos químicos não devem ser produzidos; (2) resíduos produzidos não devem ser tóxicos; (3) a quantidade de resíduos deve ser minimizada; (4) resíduos tóxicos devem ser recicláveis e, se possível, reutilizados; (5) o procedimento analítico deve incluir uma etapa de tratamento e disposição do resíduo. Na medida que atingir o objetivo 1 é quase impossível e, em certas circunstâncias, a geração de resíduos tóxicos é inevitável, resta então, desenvolver uma metodologia que reduza a geração desses resíduos e que também possa tratá-los convenientemente. Dentro dessas considerações, as análises em fluxo se apresentam como uma ferramenta eficaz, pois possuem características inerentes capazes de atingir tais metas.

A estratégia geral para o tratamento de resíduos em linha é introduzir um reagente adicional após a célula de fluxo com o objetivo de destruir ou passivar as espécies tóxicas no efluente. Pode ser alcançada através de processos químicos, térmicos, fotoquímicos ou por degradação microbiológica. A degradação fotoquímica tem sido a mais comum em utilização. Geralmente é realizada sob a presença de radiação ultravioleta (UV), com o auxílio ou não de uma fase heterogênea catalisadora (geralmente TiO_2) ou peróxido de hidrogênio. Nestes processos, compostos intermediários altamente reativos, como os radicais hidroxilas (OH^*), são gerados, podendo oxidar inúmeras classes de compostos orgânicos promovendo sua mineralização total, resultando como produtos finais o CO_2 , a água e outros ácidos minerais (HUANG et al., 1993).

O sistema de análise em fluxo desenvolvido para a determinação de N total e NO_3^- descrito na seção 3.1.4.3, apesar de gerar uma quantidade muito menor de resíduo que o método anteriormente adotado (método Kjeldhal modificado), gerava um resíduo tóxico (cancerígeno), o indofenol. Dessa forma, uma metodologia de tratamento desse resíduo foi desenvolvida para a eliminação do indofenol diretamente no mesmo sistema de análise em fluxo onde fora realizada a determinação de N total e NO_3^- .

A Figura 6.1 se refere a um desenho esquemático detalhado da unidade de tratamento de resíduos. É composta de uma lâmpada germicida de ultravioleta com um reator de 4 m de comprimento enrolado na mesma e o conjunto adaptado dentro de uma caixa com paredes internas cobertas com folhas de alumínio. O princípio de funcionamento é a oxidação fotoquímica dos compostos orgânicos a um pH ácido, ou seja, o resíduo entra em contato com uma solução ácida contendo peróxido de hidrogênio, a qual é direcionada à lâmpada de UV, onde acontece a mineralização do resíduo através da ação dos radicais hidroxilas gerados tanto pelo peróxido quanto pela radiação UV. Na Figura 6.2 observam-se alguns espectros onde a eficiência do tratamento realizado no resíduo é demonstrada pela diminuição da absorbância na região do visível, caracterizando a destruição do composto fenólico (medido em 660 nm).

Após a etapa de destruição do indofenol, o resíduo ainda apresentava uma coloração amarelo-palha, devido à presença do nitroprussiato, o qual pode ser retirado da solução por precipitação. Após a retirada do nitroprussiato, a solução é levada a pH neutro, podendo ser então descartada.

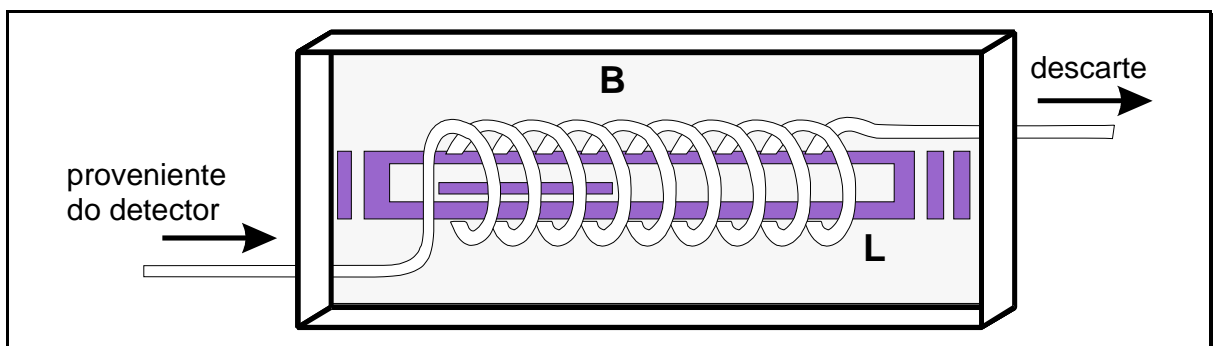


FIGURA 6.1. Desenho esquemático da unidade de tratamento de resíduos. L, lâmpada germicida de UV; B, bobina de reação com 4 m de comprimento. As setas indicam o sentido do fluxo.

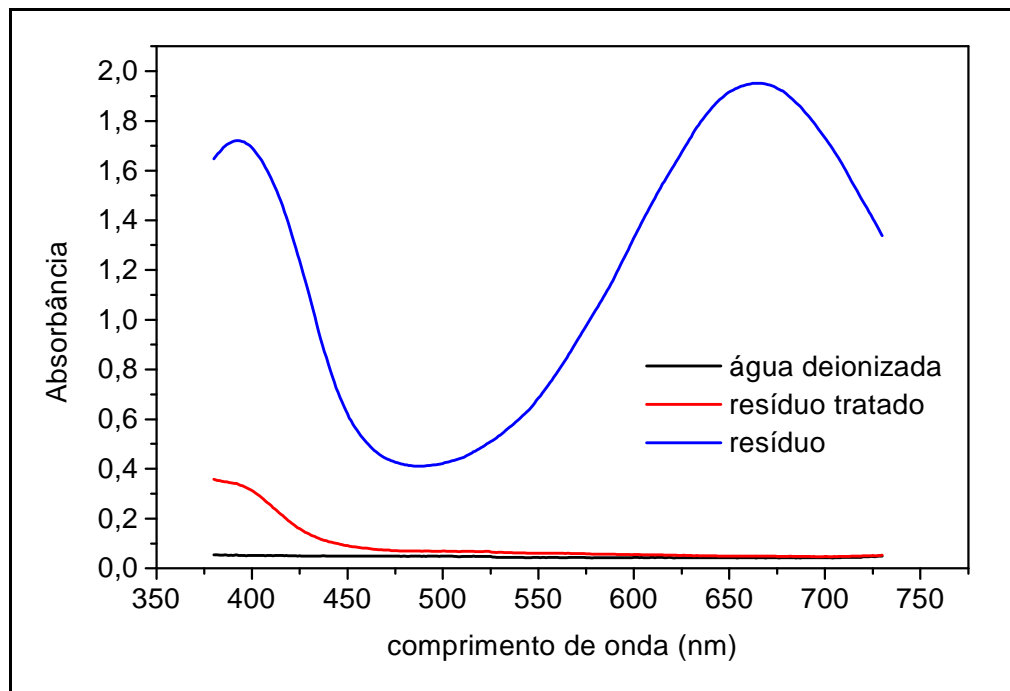


FIGURA 6.2. Espectros na região do visível demonstrando o resíduo antes e após o tratamento.

Já a utilização de sensores, a qual implica na eliminação e ou redução de algumas etapas do procedimento analítico convencional como a amostragem, por exemplo, pode levar ao alcance de metodologias analíticas limpas, como descrito acima. Têm-se como exemplos o sistema de análise em fluxo com eletrodo de cobalto para a especiação de P em amostras de sementes e grãos e a sonda de análise de nutrientes em solos, os quais produziram pouco ou nenhum resíduo, respectivamente. O resíduo produzido pelo sistema em fluxo não é tóxico e pode ser descartado diretamente sem nenhum tratamento prévio.

Conclusões

7 – CONCLUSÕES

De forma geral, os resultados apresentados permitem avaliar satisfatoriamente as estratégias adotadas para o melhoramento da seqüência analítica de amostras de interesse agrônômico. Com a utilização da técnica de análise em fluxo, pôde-se aumentar a freqüência analítica da etapa de medida, além de outras vantagens obtidas como a simplificação da análise, diminuição dos custos com a mesma e minimização da geração de resíduos. Com a utilização da análise *in situ* de solos, pôde-se eliminar a etapa de amostragem, simplificando drasticamente todo o processo analítico inerente a esse tipo de amostra (amostragem, preparo da amostra e medida). Também permitiu o acompanhamento da evolução no solo de importantes nutrientes necessários aos cultivos de forma rápida e simples.

Avaliando cada estratégia separadamente, pod-se observar primeiramente, para o sistema de determinação de nitrogênio total e de suas formas inorgânicas, que o mesmo aumentou drasticamente a freqüência analítica se comparado ao método tradicional de análise (Kjeldahl), causando a diminuição do custo da análise e da quantidade e periculosidade dos resíduos gerados. Os resíduos gerados puderam ser tratados com a utilização da oxidação fotoquímica de forma eficiente e com baixo custo também.

A aplicação do eletrodo de cobalto metálico para a determinação de fitato foi aplicada com eficiência na especiação de fósforo em amostras de sementes e grãos utilizados na nutrição animal visando a avaliação nutricional das mesmas. Pôde-se verificar uma sensibilidade quase nernstiana para a determinação de fosfato, a qual foi concordante com os dados apresentados na literatura. Entretanto, o eletrodo apresentou sensibilidade em torno de 127 mV dec^{-1} para a determinação de fitato, que, de acordo a lei de Nernst, mostra possuir menos que a metade da carga efetiva, mais precisamente devido a interação mantida com a solução tampão. O mecanismo de interação do fitato com a superfície do eletrodo de cobalto deve ser melhor investigado. Obteve-se uma faixa linear de trabalho de 10 a 1000 mg L^{-1} de P_{org} sob as condições experimentais estabelecidas. Todo o sistema apresentou uma freqüência analítica de 25 amostras por hora, a qual incluía a análise de fósforo inorgânico (P_i) e orgânico (P_{org}). A utilização do eletrodo de cobalto abre espaço

para diversas aplicações na determinação de outros compostos organosofosforados tais como ATP, ADP, fosfocreatina e surfactantes.

O protótipo de análise de solos *in situ* utilizando sensores íon-seletivos a base de membrana PVC permitiu o monitoramento do comportamento dos nutrientes estudados com eficiência. Os sensores íon-seletivos, quando aplicados diretamente no solo, apresentaram concordância satisfatórias dos seus resultados com aqueles gerados por métodos de comparação usualmente empregados em análises de solos para fins de fertilidade. Cabe destacar aqui a concordância dos resultados obtidos pelos sensores de pH com os obtidos pelo método de extração com solução salina de CaCl_2 e a não concordância com a extração realizada somente com água.

Os sensores demonstraram-se influenciados por variáveis intrínsecas do solo, tais como a umidade, a temperatura e a força iônica do mesmo. A influência da umidade foi demonstrada nos estudos com o nitrato, o potássio e o cálcio, e crê-se que possa ser ampliada para os outros analitos no solo. Em geral, os sensores apresentam maior sensibilidade com um menor teor de umidade do solo. A força iônica também apresenta influência sobre a resposta dos sensores, porém essa influência só é perceptível quando há uma mudança drástica na mesma no solo, ou seja, quando há adição brusca de grandes quantidades de um nutriente no solo.

Porém a influência mais complexa sofrida pelo sistema sonda-solo é em decorrência da variação da temperatura do solo. Observa-se um comportamento cíclico dos potenciais gerados, acompanhando o comportamento cíclico da temperatura no solo. Com o aumento da temperatura, há uma diminuição do potencial dos sensores, enquanto que com a diminuição da temperatura ocorre o aumento dos potenciais gerados pela sonda. Esse comportamento foi investigado individualmente para os nutrientes estudados (NO_3^- , NH_4^+ , K^+ e P) e chegou-se a conclusão que tais ciclos podem ser o resultado da influência da temperatura de forma conjunta sobre a sonda e sobre os processos de movimentação dos nutrientes ocorrentes no solo. Assim, para o N, por exemplo, a sonda demonstra uma diminuição do NH_4^+ e aumento do NO_3^- quando a temperatura do solo aumenta, o qual pode estar relacionado com a mineralização da matéria orgânica do solo. De forma semelhante, o comportamento do P apresenta relação direta com o aumento da temperatura, estando diretamente ligado à atuação da massa microbiana do solo e a mineralização da matéria orgânica. Entretanto, para o K acredita-se a resposta apresentada seja fruto da influência da temperatura sobre a sonda mais do que

sobre o solo, a grande maioria dos estudos aponta para o aumento da concentração do K na solução do solo com o aumento da temperatura do mesmo, apesar de haver casos de reabsorção do K livre pelo solo em temperaturas mais altas.

Enfim, os resultados indicam a possibilidade de mais avanços no desenvolvimento de equipamentos para a medição *in situ* e grande aplicabilidade deste instrumental no monitoramento da fertirrigação, auxiliando o estabelecimento dos processos racionais de gestão da agricultura.

Referências Bibliográficas

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGBENIN, J. O.; VAN RAIJ, B. "Rate processes of calcium, magnesium and potassium desorption from variable charge soils by mixed ion-exchange resins". *Geoderma*, **93**, 141, 1999.
- ARTIGAS, J. *Desenvolupament de Sensors Potenciomètrics D'Estat Sòlid per a Usos Mediambientals i Agroalimentaris*. Bellaterra, Universidade Autònoma de Barcelona, 2003. Tese de doutorado.
- AUERNHAMMER, H. "Global positioning systems in agriculture". *Computers and Electronics in Agriculture*, **11**, 1, 1994.
- BADAWY, W.A.; AL-KHARAFI, F.M.; AL-AJMI, J.R. "Electrochemical behaviour of cobalt in aqueous solutions of different pH". *Journal of Applied Electrochemistry*, **30**, 693, 2000.
- BELL, M; MOODY, P. "Soil fertility decline using potassium (K) as a case study". Disponível na Internet em http://www.grdc.com.au/growers/res_upd/north/03/jandowae. Acessada em janeiro de 2004.
- BIRREL, S.J. e HUMMEL, J.W. "Real-time multi ISFET/FIA soil analysis system with automatic sample extraction". *Computers and Electronics in Agriculture*, **32**, 45, 2001.
- BRADY, N. C. *Natureza e propriedade dos solos*. 6a ed. Rio de Janeiro, Freitas Bastos, 1983.
- BÜHLMANN, P.; PRETSCH, E.; BAKKER, E. "Carrier-based ion-selective electrodes and bulk optodes. 2. Ionophores for potentiometric and optical sensors". *Chemical Reviews*, **98**, 1593, 1998.
- BURBANO, C.; MUZQUIZ, M.; OSAGIE, A.; AYET, G.; CUADRADO, C. "Determination of phytate and lower inositol phosphates in spanish legumes by HPLC methodology". *Food Chemistry*, **52** (3), 321, 1995.
- BUSCHER, B. A. P.; VAN DER HOEVEN, R. A. M.; TJADEN, U. R.; ANDERSSON, E.; VAN DER GREEF, J. "Analysis of inositol phosphates and derivatives using capillary zone electrophoresis mass-spectrometry". *Journal of Chromatography A*, **712** (1), 235, 1995.
- CÁCERES, E.J.B. *Disseny, Construcció i Avaluació D'Analitzadors per a la Monitorització Mediambiental*. Bellaterra, Universidade Autònoma de Barcelona, 2001. Tese de doutorado.
- CASFS. *Training manual*. Disponível na Internet em <http://zzyx.ucsc.edu/casfs/training/manual/>. Acessada em janeiro de 2004.

- CATRALL, R.W. *Chemical Sensors*. Oxford University: New York, 1997.
- CHEN, Z.; DE MARCO, R.; ALEXANDER, P.W. "Flow-injection potentiometric detection of phosphates using a metallic cobalt wire ion-selective electrode in marine waters", *Analytical Communications*, **34**, 93, 1997.
- CREA, F.; CREA, P.; DE ROBERTIS, A.; SAMMARTANO, S. "Speciation of phytate ion in aqueous solution. Characterisation of Ca-phytate sparingly soluble species". *Chemical Speciation and Bioavailability*. **16** (1-2), 53, 2004.
- CRESTANA, S., CRUVINEL, P.E., MASCARENHAS, S., BISCEGLI, C.I., MARTIN NETO, L.; COLNAGO, L.A. *Instrumentação Agropecuária: Contribuições no Limiar do Novo Século*. Brasília, Embrapa, 1996.
- DE MARCO, R., PHAN, C. "Determination of phosphate in hydroponic nutrient solutions using flow injection potentiometry and a cobalt-wire phosphate ion-selective electrode". *Talanta*, **60** (6), 1215, 2003.
- DE MARCO, R., PEJCIC, B., CHEN, Z. "Flow injection potentiometric determination of phosphate in waste waters and fertilisers using a cobalt wire ion-selective electrode". *Analyst*, **123** (7), 1635, 1998.
- DE STEFANO, C.; GIUFFRÈ, O.; MILEA, D.; RIGANO, C.; SAMMARTANO, S. "Chemical speciation of phytate ion in aqueous solution. Non covalent interactions with biogenic polyamines". *Chemical Speciation and Bioavailability*. **15**, 29, 2002.
- DE STEFANO C.; MILEA, D.; SAMMARTANO, S. J. Speciation of Phytate Ion in Aqueous Solution. Protonation Constants in Tetraethylammonium Iodide and Sodium Chloride". *Journal of Chemical Engineering Data*, **48**, 114, 2003.
- DEKONING, A.J. "Determination of myoinositol and phytic acid by gas-chromatography using scyllitol as internal standard". *Analyst*, **119** (6), 1319, 1994.
- ECKERT, D. Nitrogen. Disponível na internet em. Acessada em 01/02/2005.
- EMBRAPA. *Dados climatológicos*. Disponível na Internet em www.cppse.embrapa.br. Acessado em janeiro de 2005.
- ENGBLOM, S.O. "Determination of inorganic phosphate in a soil extract using a cobalt electrode". *Plant and Soil*, **206**, 173, 1999.
- FARIA, L. C.; PASQUINI, C. "Flow-injection determination of inorganic forms of nitrogen by gas diffusion and conductimetry". *Analytica Chimica Acta*. **245**, 183, 1991.
- FITZHUGH, R.D.; LOVETT, G.M.; VENTEREA, R.T. "Biotic and abiotic immobilization of ammonium, nitrite, and nitrate in soils developed under different tree species in the Catskill Mountains, New York, USA". *Global Change Biology*, **9**, 1591, 2003.

- FLOATE, M.J.S. "Mineralization of nitrogen and phosphorus from organic materials of plant and animal origin and its significance in the nutrient cycle in grazed upland and hill soils". *Journal of British Grassland Society*, **25**, 295, 1970.
- HANTSCHHEL, R.E., KAMP, T., BEESE, F. "Increasing the soil temperature to study global warming effects on the soil nitrogen cycle in agroecosystems". *Journal of Biogeography*, **22**, 375, 1995.
- HARLAND, B. F.; NARULA, G. "Food phytate and its hydrolysis products". *Nutrition Research*. **19**, 947, 1999.
- HUANG, C.P.; DONG, C.E., TANG, Z. "Advanced chemical oxidation: its present role and potential future in hazardous waste treatment". *Waste Management*, **13**, 361, 1993.
- HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. "Chemical sensors definitions and classification". *Pure and Applied Chemistry*, **63** (9), 1247, 1991.
- HURN, J. *GPS: a guide to the next utility*. Sunnyvale, Trimble Navigation, 1996.
- INESON, P.; TAYLOR, K.; HARRISON, A. F.; POSKITT, J.; BENHAM, D. G.; TIPPING, E.; WOOF, C. "Effects of climate change on nitrogen dynamics in upland soils. 1. A transplant approach". *Global Change Biology*, **4**, 143, 1998.
- INESON, P.; BENHAM, D. G.; POSKITT, J.; HARRISON, A. F.; TAYLOR, K.; WOOF, C. "Effects of climate change on nitrogen dynamics in upland soils. 2. A soil warming study". *Global Change Biology*, **4**, 153, 1998.
- ISHIGURO, T.; ONO, T.; NAKASATO, K.; TSUKAMOTO, C.; SHIMADA, S. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 752, 2003.
- JOHNSTON, A. E. *Soil and Plant Phosphate*. Paris, International Fertilizer Industry Association, 2000.
- JONASSON, W., HAVSTRÖM, M., JENSEN, M., CALLAGHAN, T. V. "In situ mineralization of nitrogen and phosphorus of arctic soils after perturbations simulating climate change". *Ecology*, **95**, 179, 1993.
- JONASSON, W., LEE, J. A., CALLAGHAN, T. V., HAVSTRÖM, M., PARSONS, A. N. "Direct and indirect effects of increasing temperatures on subarctic ecosystems". *Ecology Bulletins*, **45**, 180, 1996.
- JONES, S.B.; WRAITH, J.M.; OR, D. "Time domain reflectometry measurement principles and applications". *Hydrological Processes*, **16**, 141, 2002.
- JOSLIN, J.D., JOHNSON, D.W. "Effects of soil warming, atmospheric deposition, and elevated carbon dioxide on forest soils in the southeastern United States". IN: *The productivity and sustainability of southern forest ecosystems in a changing environment*. MICKLER, R.A.; FOX, S. (Eds.). New York, Springer, 1998.

- JOSLIN, J. D., WOLFE, M. H. "Temperature increase accelerates nitrate release from high-elevation red spruce soils". *Canadian Journal of Forest Research*, **23**, 756, 1993.
- KEMPERS, A. J.; KOK, C. J. "Re-examination of the determination of ammonium as the indophenol blue complex using salicylate". *Analytica Chimica Acta*, **221**, 147, 1989.
- KEWILLE, A. L.; WRIGHT, R. F. "Experimentally increased soil temperature causes release of nitrogen at boreal forest catchments in southern Norway". *Global Change Biology*, **3**, 13, 1997.
- KINCHELOE, S. *Efficient Fertilizer Use: the soil defined*. Disponível na Internet em <http://www.imcagrico.com>. Acessada em janeiro de 2004.
- KRUG, F. J. *Pré-Tratamento de Amostras*. II Workshop on Methods of Sample Decomposition, Piracicaba, CENA-USP, 1998.
- LACLAU, J. P.; RANGER, J.; NZILA, J. D.; BOUILLETA, J. P.; DELEPORTE, P. "Nutrient cycling in a clonal stand of Eucalyptus and an adjacent savanna ecosystem in Congo. 2. chemical composition of soil solutions". *Forest Ecology and Management*, **180**, 527, 2003.
- LE GOFF, T.; BRAVEN, J.; EBDON, L.; CHILCOTT, N.P.; SCHOLEFIELD, D.; WOOD, J.W. "An accurate and stable nitrate-selective electrode for the in situ determination of nitrate in agricultural drainage waters". *Analyst*, **127**, 507, 2002.
- LEI, X. G.; PORRES, J. M. "Phytase enzymology, applications, and biotechnology". *Biotechnology Letters*, **25**, 1787, 2003.
- LEMOS, S. G., VIEIRA, E. C., PARRA, A. NOGUEIRA, A. R. A.; ALONSO, J. "Especiação de fósforo em sementes utilizando sistema de análise em fluxo com detecção potenciométrica". *Livro de Resumos do 12º Encontro Nacional de Química Analítica (12º ENQA)*, São Luís-MA, 2003.
- LOPES, A. S. *Manual de Fertilidade do Solo*. Piracicaba, ANDA/POTAPHOS, 1989.
- LUCHESE, E. B.; FAVERO, L. O. B.; LENZI, E. *Fundamentos da Química do Solo*. 2a ed. Rio de Janeiro, Freitas Bastos, 2002.
- MACHADO, A. A. S. C. "Conductive epoxy-based ion-selective electrodes". *Analyst*, **19**, 2263, 1994.
- MADOU, M. J. & MORRISON S. R. *Chemical Sensing With Solid-State Devices*. San Diego, Academic Press, 1989.
- MALAVOLTA, E. *Manual de Química Agrícola: adubos e adubação*. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1981.
- MALAVOLTA, E. "Fósforo: ele é essencial – sem fósforo as plantas não vivem". *Arquivo do agrônomo*, **10**, 1996.

- MAOHUA, W. "Possible adoption of precision agriculture for developing countries at the threshold of new millennium". *Computers and Electronics in Agriculture*, **30**, 45, 2001.
- MATUMOTO-PINTRO, P.T. *Role des Phosphatases dans L'utilisation du Phosphore Organique par les Champignons Ectomycorrhiziens et Leurs Associations avec le Pin Laricio de Corse: Influence des Surfaces Adsorbantes Sur L'activite des Phosphatases*. Montpellier, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, 1996. Tese de doutorado.
- MENEZES, R. S. C.; SALCEDO, I. H.; ELLIOTT, E. T. "Microclimate and nutrient dynamics in a silvopastoral system of semiarid northeastern Brazil". *Agroforestry Systems*, **56**, 27, 2002
- MERUVA, R.K.; MEYERHOFF, M.E. "Mixed potential response mechanism of cobalt electrodes toward inorganic phosphate". *Analytical Chemistry*, **68**, 2022, 1996.
- MERUVA, R.K.; MEYERHOFF, M.E. "Potentiometric oxygen sensor based on mixed potential of cobalt wire electrode". *Analytica Chimica Acta*, **341** (2-3), 187, 1997.
- MULLA, D. J. & SCHEPERS, J. S. "Key process and properties for site-specifics soil and crop management". IN: *The State of Site-Specific Management for Agriculture*. Madison, American Society of Agronomy, 1996.
- MUÑOZ, J. A.; VALIENTE, M. "Determination of phytic acid in urine by inductively coupled plasma mass spectrometry". *Analytical Chemistry*, **75**, 6374, 2003.
- NEVE, S.; HARTMANN, R.; HOFMAN, G. "Temperature effects on N mineralization: changes in soil solution composition and determination of temperature coefficients by TDR". *European Journal of Soil Science*, **54**, 49, 2003.
- NICOLARDOT, B.; FAUVET, G.; CHENEY, D. "Carbon and nitrogen cycling through soil microbial biomass at various temperatures". *Soil Biology and Biochemistry*, **26**, 253, 1994.
- NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B.; BATISTA, L. A. R. "Determinação espectrofotométrica de nitrogênio em digeridos de plantas em sistema de análise por injeção em fluxo". *Química Nova*. **19** (1), 33, 1996.
- OEHL, F.; OBERSON, A.; PROBST, M.; FLIESSBACH, A.; ROTH, H. R.; FROSSARD, E. "Kinetics of microbial phosphorus uptake in cultivated soils". *Biology and Fertility of Soils*, **34**, 31, 2001.
- PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. *Methods of Soil Analysis. Part 2 – chemical and microbiological properties*. 2a ed. Madison, Academic Press, 1982.
- PARRA, A. *Desenvolupament i Caracterització d'un Sensor Potenciomètric Selectiu d'ió Fosfat Mitjançant Interaccions Host-Guest*. Bellaterra, Universidade Autònoma de Barcelona, 2002. Dissertação de mestrado.

- PETERJOHN, W. T., MELILLO, J. M., STREUDLER, P. M., NEWKIRK, K. M., BOWLES, F. P., ABER, J. D. "Responses of trace gas fluxes and N availability to experimentally elevated soil temperatures". *Ecology Applied*, **4**, 617, 1994.
- PLANT, R. E. 'Site-specific management: the application of information technology to crop production". *Computers and Electronics in Agriculture*, **30**, 9, 2001.
- RABOY, V. "Molecules of interest: myo-Inositol-1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate". *Phytochemistry*. **64**, 1033, 2003.
- ROBINSON, C. H., WOOKEY, P. A., PARSONS, A. N., POTTER, J. A., CALLAGHAN, T. V., LEE, J. A., PRESS, M. C., WELKER, J. M. "Responses of plant litter decomposition and nitrogen mineralization to simulated environmental change in a high arctic polar semi-desert and a subarctic dwarf shrub heath". *Oikos*, **74**, 503, 1995.
- ROCHA, F. R. P. E REIS, B. F. "A flow system exploiting multicommutation for speciation of inorganic in waters". *Analytica Chimica Acta*. **409**, 227, 2000.
- RUZICKA, J; HANSEN, E.H. "Flow injection analysis. Part I. A new concept of fast continuous flow analysis". *Analytica Chimica Acta*, **78**, 145, 1975.
- RUZICKA, J; HANSEN, E.H. "Homogeneous and heterogeneous systems. Flow injection analysis today and tomorrow". *Analytica Chimica Acta*, **214**, 1, 1988.
- SCHMIDT, I. K.; TIETEMA, A.; WILLIAMS, D.; GUNDERSEN, P.; BEIER, C.; EMMETT, B. A.; ESTIARTE, M. "Soil solution chemistry and element fluxes in three european heathlands and their responses to warming and drought". *Ecosystems*, **7**, 638, 2004.
- SCHULTESS, P.; SHIJO, Y.; PHAM, H. V.; PRETSCH, E.; AMMANN, D.; SIMON, W. "A hydrogen ion-selective liquid-membrane electrode based on tri-n-dodecylamine as neutral carrier". *Analytica Chimica Acta*, **131**, 111, 1981.
- SEKIGUCHI, Y.; MATSUNAGA, A.; YAMAMOTO, A.; INOUE, Y. "Analysis of condensed phosphates in food products by ion chromatography with an on-line hydroxide eluent generator". *Journal of Chromatography A*, **881** (1-2), 639, 2000.
- SIMARD, S.; GALLANT, D. "A study of the electrochemical behaviour of cobalt in aqueous $\text{H}_2\text{CO}_3 / \text{HCO}_3^- / \text{CO}_3^{2-}$ solutions a pH 7-9". *Canadian Journal of Chemistry*, **82**, 583, 2004.
- SKEGGS, L.T. "An automatic method for colorimetric analysis". *Clinical Chemistry*, **2** (4), 241, 1956
- SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 7a ed. Nova Iorque, Saunders College Publishing, 1996.
- SNYDER, C. *Efficient Fertilizer Use: Soil pH Management*. Disponível na Internet em <http://www.imcagrigo.com>. Acessada em janeiro de 2004.

- SOMMER, S.; HILL, J.; MÉGIER, J. "The potential of remote sensing for monitoring rural land use changes and their effects on soil conditions". *Agriculture Ecosystems and Environment*, **67**, 197, 1998.
- STANFORD, G.; EPSTEIN, E. "Nitrogen mineralization water relations in soils". *Soil Science Society of America Proceedings*, **38**, 103, 1974.
- STARK J. M.; FIRESTONE, M. K. "Kinetic characteristics of ammonium-oxidizer communities in a California oak woodland-annual grassland". *Soil Biology and Biochemistry*, **28**, 1307, 1996.
- STRAUCH, J. C. M. *Estudo de Viabilidade Técnica-Econômica para Implantação da Agricultura de Precisão na Cultura de Soja sob Rotação de Culturas em Plantio Direto na Região de Campos Gerais - PR*. Disponível na Internet em www.cnps.embrapa.br/search/pesqs/proj07/home.html. Acesso em novembro de 2003.
- TAN, K. H. *Principles of Soil Chemistry*. New York, Marcel Dekker, 1983.
- THOMPSON, B. *Efficient Fertilizer Use: Potassium*. Disponível na Internet em <http://www.imcagrigo.com>. Acesso em janeiro de 2004.
- TOPP, G.C., DAVIS, J.L.; ANNAN, A.N. "Electromagnetic determination of soil water content: measurements in coaxial transmission line". *Water Resources Research*. **16** (3), 574, 1980.
- TURNER, B. L.; MAHIEU, N.; CONDRON, L. M. "Quantification of myoinositol hexakisphosphate in alkaline soil extracts by solution ³¹P NMR spectroscopy and spectral deconvolution". *Soil Science*, **168**, 469, 2003.
- VAN CLEVE, K., OECHEL, W. D., HOM, J. L. "Response of black spruce (*Picea mariana*) ecosystems to soil temperature modification in interior Alaska". *Canadian Journal of Forest Research*, **20**, 1530, 1990.
- VAN RAIJ, B.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. *Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais*. Campinas, Instituto Agrônomo, 2001.
- VAN RAIJ, B. *Fertilidade do Solo e Adubação*. Piracicaba, Editora Agronômica Ceres, 1991.
- VERBURG, P.S.J., VAN LOON, W.K.P., LÜKEWILLE, A. "The CLIMEX experiment: soil response after 2 years of treatment". *Biology and Fertility of Soils*, **28**, 271, 1999.
- VIEIRA, E. C., NOGUEIRA, A. R. A. J. "Orthophosphate, Phytate, and Total Phosphorus Determination in Cereals by Flow Injection Analysis". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 1800, 2004.

- VITTI, G.C.; PEREIRA, H.S.; MANARIN, C.A.; FERREIRA, A.C. "Programa de controle de qualidade de laboratórios de análise foliar (ano 11-1996/97)". *Boletim de Informações da SBCS*, **145**, 22, 1997.
- XIAO, D., YUAN, H., LI, J., YU, R. "Surface-modified cobalt-based sensor as a phosphate-sensitive electrode". *Analytical Chemistry*, **67**, 288, 1995.
- YU, T. R. "Application of ion-selective electrodes in soil science". *Ion-Selective Electrodes Review*, **7**, 165, 1985.