

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

**“DETERMINAÇÃO *IN SITU* DE FÓSFORO, NITRATO E AMÔNIO EM
SOLO”**

EVELINE DE ABREU MENEZES*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientadora: Dra. Ana Rita de A. Nogueira

*** Bolsista CNPq**

São Carlos – SP

2006

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

M543ds

Menezes, Eveline de Abreu.

Determinação *in situ* de fósforo, nitrato e amônio em solo
/ Eveline de Abreu Menezes. -- São Carlos : UFSCar, 2006.
101 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2006.

1. Instrumentação. 2. Fósforo. 3. Nitrato. 4. Amônio. 5.
Análise *in situ*. 6. Sonda analítica. I. Título.

CDD: 543.07 (20ª)

“Plante seu jardim e decore sua alma, ao invés de esperar que alguém lhe traga flores.”

Sheakspeare

Aos meus pais Francisco Xavier e Maria Lúcia e à minha irmã Evilene que sem os quais não conseguiria realizar este trabalho. A distância entre nós foi imensa, mas o amor recíproco me fortalecia para o cumprimento desta etapa.

Agradecimentos

Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram de alguma forma para que esse trabalho fosse realizado, em especial:

À Dra. Ana Rita de Araújo Nogueira pela orientação, amizade, incentivo, confiança e apoio durante todo o desenvolvimento desse trabalho;

Ao Dr. Sherlan Guimarães Lemos pelo apoio, paciência e amizade durante todo o desenvolvimento desse trabalho;

Ao Prof. Dr. Joaquim Araújo Nóbrega pelas importantes sugestões;

Ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade;

A todos os professores do DQ/UFSCar que contribuíram para minha formação acadêmica;

Ao Grupo de Sensores e Biossensores da Universidade Autônoma de Barcelona, pelo apoio técnico científico, sem o qual a realização desse trabalho seria impossível;

Ao Dr. André Torre Neto, por todo auxílio técnico imprescindível ao desenvolvimento deste trabalho;

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

À Embrapa Pecuária Sudeste pelo espaço e oportunidade concedidos;

Ao CNPq pela bolsa concedida;

Aos funcionários do DQ/UFSCar em especial às funcionárias da Secretaria de Pós-Graduação;

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

Aos amigos e companheiros do GAIA: Adriana, Alexandra, Andréa, Ariel, Caio, Carla Bossu, Carla Kamogawa, Cláudia, Clésia, Daniel, Dani, Edilene, Edivan, Fabiana, Fernanda, Fernando, Flávia, George, Geórgia, Gian, Kelly, Lílian, Marcos Kamogawa, Marquinhos, Mário, Mirian, Patrícia, Rodolfo, Sherlan, Silvia, Simone e

Wladiana pela amizade, bom ambiente de trabalho e sugestões, troca de conhecimentos, momentos alegres e por terem sido minha família em São Carlos;

Às amigas Adriana e Joana pelo companheirismo e amizade;

À Carlinha minha companheira de república pela amizade, boa convivência, apoio e pelas risadas;

Às amigas Clésia e Cris lamamoto por todo apoio, carinho e amizade e por terem me recebido em suas casas quando cheguei a São Carlos mesmo sem me conhecerem;

À minha amiga Wladiana pelo apoio, amizade, companheirismo, desabafos e momentos de alegria;

Ao amigo Prof. Dr. Sandro Tomaz Gouveia pelo incentivo e apoio;

Aos meus amigos e familiares de Fortaleza que apesar da distância estão sempre torcendo por mim;

Enfim, a Deus por tudo.

LISTA DE TABELAS

TABELA 5.1 - Formulação das membranas poliméricas (% em peso).....	42
TABELA 5.2 – Resumo das determinações de nitrogênio e modos de cálculos....	50
TABELA 6.1 – Teores de fósforo obtidos pelos três métodos de extração: Mehlich-1, Mehlich- 3 e resina de troca iônica	54
TABELA 6.2 - Matriz de planejamento para avaliação das variáveis concentração de fósforo, umidade e temperatura do solo sobre a reposta dos sensores a 20 cm de profundidade.....	60
TABELA 6.3 – Correlação entre os potenciais dos sensores da sonda potenciométrica a 20 cm e o método de extração resina de troca iônica.....	66
TABELA 6.4 - Correlação entre os potenciais dos sensores da sonda potenciométrica a 20 cm e o método de extração Mehlich -1.....	66
TABELA 6.5 - Correlação entre os potenciais dos sensores da sonda potenciométrica a 20 cm e o método de extração Mehlich -3.....	66
TABELA 6.6 - Determinação da porcentagem de N total nas plantas coletadas nas regiões das sondas 1, 2, 3 e 4.....	74

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 4.1 - Vista frontal do sensor na forma como fica instalado no corpo da sonda utilizada no trabalho.....	35
FIGURA 4.2 - Desenho esquemático da sonda construída.....	36
FIGURA 4.3 - Janelas do programa desenvolvido para o gerenciamento da sonda analítica.....	37
FIGURA 4.4 - Planilha eletrônica responsável pelo armazenamento dos dados obtidos.....	38
Figura 4.5 – Foto das quatro sondas analíticas utilizadas para determinação de NH_4^+ e NO_3^-	39
FIGURA 5.1 - Desenho esquemático da fabricação do sensor ISE de configuração convencional.....	40
FIGURA 5.2 - 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.....	41
FIGURA 5.3 - Diagrama de fluxos para a determinação de P-PO_4^{3-}	47
FIGURA 5.4 - Diagrama de fluxos para a determinação de N-NH_4^+	49
FIGURA 5.5 - Diagrama de fluxos para a determinação de N total, N-NO_3^-	50
FIGURA 6.1 – Comparação entre os três métodos de extração para fósforo.....	54
FIGURA 6.2 – Comparação da variação do potencial do sensor a 20cm com os resultados obtidos através dos métodos Mehlich -1 e resina de troca iônica para extração de P (mg dm^{-3} de solo).....	56
FIGURA 6.3 - Comparação da variação do potencial do sensor a 20 cm com os resultados obtidos através do método Mehlich -3 para extração de P (mg dm^{-3} de solo).....	57
FIGURA 6.4 - Comparação da variação do potencial do sensor a 5 cm com os resultados obtidos através do método Mehlich -1 para extração de P (mg dm^{-3} de solo).....	58
FIGURA 6.5 - Comparação da variação do potencial do sensor a 5 cm com os resultados obtidos através do método Mehlich -3 para extração a de P (mg dm^{-3}	58

de solo).....	
FIGURA 6.6 - Comparação da variação do potencial do sensor localizados 5 cm de profundidade com os resultados obtidos através do método resina de troca iônica para extração de P (mg dm^{-3} de solo).....	59
FIGURA 6.7 - Gráfico de Pareto mostrando a significância da influência das variáveis concentração de fósforo, umidade e temperatura do solo sobre a reposta dos sensores a 20 cm de profundidade.....	61
FIGURA 6.8 - Efeitos das variáveis concentração, umidade e temperatura sobre a resposta dos sensores da sonda potenciométrica.....	63
FIGURA 6.9 – Comparação entre os potenciais da sonda 1 e os resultados de NH_4^+ obtidos pelo método padrão de determinação (reação de Berthelot).....	69
FIGURA 6.10 – Comparação entre os potenciais da sonda 4 e os resultados de NH_4^+ obtidos pelo método pelo método padrão de determinação (reação de Berthelot).....	70
FIGURA 6.11 – Comparação entre os potenciais da sonda 1 e os resultados de NO_3^- obtidos pelo método pelo método padrão de determinação (reação de Berthelot).....	70
FIGURA 6.12 - Comparação entre os potenciais da sonda 4 e os resultados de NO_3^- obtidos pelo método pelo método padrão de determinação (reação de Berthelot).....	71
FIGURA 6.13 – Porcentagem de umidade gravimétrica das 32 amostras de solos coletadas nas regiões das sondas 1, 2, 3 e 4.....	73
FIGURA 6.14 – Extração de nitrato e amônio nas 32 amostras de solo utilizando solução de $\text{KCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$ e determinação espectrofotométrica (reação de Berthelot).....	75

RESUMO

DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO, NITRATO E AMÔNIO “IN SITU” EM SOLO. Os patamares de produtividade das culturas necessitam ser otimizados, visando proporcionar alimentos a uma população mundial cada vez maior. Há necessidade de um controle da fertilidade dos solos, para que esses se mantenham adequadamente produtivos sem, no entanto haver perdas por excesso de nutrientes, o que pode vir a causar sérios problemas ambientais. As adubações nitrogenada e fosfatada se enquadram como as principais, em função das necessidades dos solos e culturas. Neste trabalho avaliou-se o emprego de sensores químicos seletivos a fósforo (PO_4^{3-}), nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) e sua instrumentação associada, instalados em sondas construídas em material polimérico. A avaliação foi realizada com a adição de solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de P-PO_4^{3-} ao solo, aquisição de dados fornecidos pelas sondas, por coletas de amostras de solo na região em que as sondas estavam instaladas e determinação dos teores desses nutrientes por técnicas convencionais em laboratório. Os teores de PO_4^{3-} foram obtidos pelos seguintes métodos de extração: Mehlich-1, Mehlich-3 e resina de troca iônica e determinados por espectrofotometria. Comparou-se os resultados obtidos com os potenciais registrados pela sonda potenciométrica, que apresentou a melhor correlação com o método da resina. Para avaliação das sondas com sensores seletivos a NO_3^- e NH_4^+ , sal de NH_4NO_3 foi adicionado diretamente ao solo. Foram instaladas quatro sondas, uma delas utilizada como testemunha, e periodicamente coletadas amostras de solo da superfície e à 20 cm de profundidade, região de colocação dos sensores. Os teores de NO_3^- e NH_4^+ foram determinados por espectrofotometria, em procedimento baseado na reação de Berthlot adaptada a sistema em fluxo. Os resultados foram comparados aos potenciais obtidos pelos sensores, apresentando perfis similares de variação. Não foram verificadas grandes alterações nos potenciais dos sensores frente à adubação nitrogenada em decorrência da não percolação dos nutrientes no perfil do solo. Os resultados indicam boa resposta dos sensores e a potencial aplicabilidade destas sondas para o monitoramento de nutrientes no solo, auxiliando no estabelecimento de processos racionais no uso de fertilizantes nas culturas.

ABSTRACT

PHOSPHORUS, NITRATE AND AMMONIUM DETERMINATION IN SOIL IN SITU. The cultures platforms of productivity need to be optimized, owing to provide foods to an enhanced world population. A control of the soil fertility is necessary, in order to be adequately productive without, however, have losses for excess of nutrients, which could cause serious environmental problems. Due to soils and cultures requirements, nitrogen and phosphorus fertilizations are the more important ones. In this work, selective chemical sensors to phosphorus (PO_4^{3-}), nitrate (NO_3^-) and ammonium (NH_4^+), installed in polymeric probes and their associated instrumentation were evaluated. The evaluation was carried with the addition of 0.1 mol L^{-1} P- PO_4^{3-} solution to the soil, data acquisition supplied by the probes, collects of soil samples in the region where the probes were installed and determination of evaluated nutrients by conventional laboratory techniques. The PO_4^{3-} amounts were determined by spectrophotometry after the following extraction methodologies: Mehlich-1, Mehlich-3 and ionic exchange resin. The results were compared with the fitted potentials registered by the probes, and the best correlation was obtained with the method of the resin. For evaluation of the probes, constructed with selective sensors to NO_3^- and NH_4^+ , NH_4NO_3 salt was added directly to the soil. Four probes had been installed; one of them was used as control. Surface and 20-cm soil depth, region where the sensors were located, were periodically collected. The amounts of NO_3^- and NH_4^+ had been determined by spectrophotometry, by using procedure based on Berthlot reaction adapted to a flow system. The results, compared with the potentials provided by the sensors, presented similar changes profiles. Great alterations in the sensors potentials had not been observed after addition of nitrogen fertilization, due to the little percolation of nutrients in the soil profile. The results indicate good response of the sensors, and the potential applicability of these probes to assist the monitoring of soil nutrients, owing the establishment of rational processes in the fertilizers uses by the cultures.

SUMÁRIO

1- Introdução.....	2
2- Objetivos.....	6
3- Revisão Bibliográfica.....	8
3.1 – Solo.....	8
3.1.2 - Fertilidade do solo.....	8
3.2 – Fósforo.....	9
3.2.1 - Fósforo e a fertilidade do solo.....	10
3.2.2 – Movimentação do fósforo no solo.....	11
3.2.3 – Análise de fósforo em solos.....	11
3.3 - Métodos de extração de fósforo.....	12
3.3.1 – Mehlich – 1.....	12
3.3.2 – Mehlich – 3.....	12
3.3.3 – Resina de troca iônica.....	13
3.4 – Métodos de determinação de fósforo.....	13
3.4.1 – Método azul de molibdênio.....	13
3.5 – Nitrogênio.....	14
3.5.1 – Nitrogênio no solo.....	14
3.5.2 – Adubação nitrogenada.....	15
3.5.3 – Métodos de determinação de nitrogênio.....	17
3.5.3.1 – Método Kjeldahl.....	17
3.5.3.2 – Extração com KCl.....	18
3.5.3.3 – Método azul de indofenol – reação de Berthelot.....	18
3.5 - Agricultura de precisão.....	18
3.6 - Análise direta de solo.....	20
3.7 – Sensores químicos.....	21
3.7.1 – Eletrodo íon-seletivo (ISE).....	23
3.7.1.1 – Eletrodo íon-seletivos de membrana poliméricas.....	23
3.7.2 – Ionóforo.....	24

4 – Materiais Métodos.....	27
4.1 – Amostras.....	27
4.1.2 – Reagentes.....	27
4.2 – Reagentes e soluções.....	28
4.2.1 – Métodos de extração de fósforo.....	28
4.2.1.1 – Mehlich -1.....	29
4.2.1.2 – Mehlich -3.....	29
4.2.1.3 – Extração com resina de troca iônica.....	29
4.2.1.4 – Soluções padrão de fósforo utilizado em cada método.....	29
4.3 – Instrumentação.....	30
4.4 – Determinação de fósforo.....	31
4.4.1 – Método azul de molibdênio.....	31
4.4.2 – Determinação de NH_4^+ e NO_3^-	31
4.4.3 – Determinação de N (total) em material vegetal.....	32
4.5 – Construção do eletrodo.....	33
4.5.1 – Preparação da membrana.....	34
4.5.2 – Construção da sonda analítica para determinação de fósforo <i>in situ</i>	34
4.5.3 – Construção das sondas analíticas para determinação de NH_4^+ e NO_3^- <i>in situ</i>	38
5 – Procedimento Experimental.....	40
5.1 – Construção dos sensores.....	40
5.2 – Preparação da membrana polimérica.....	41
5.3 – Avaliação das sondas analíticas.....	42
5.3.1 - Avaliação da sonda de fósforo.....	43
5.3.1.1 – Comparação dos resultados de fósforo obtidos com a sonda potenciométrica e os métodos padrão de extração.....	43
5.3.2 – Avaliação das sondas de nitrato e amônio.....	44
5.4 – Metodologias comparativas para determinação de fósforo no solo.....	45
5.4.1 – Extração de fósforo pelo método Mehlich -1.....	45
5.4.2 – Extração de fósforo pelo método Mehlich -3.....	45
5.4.3 – Extração de fósforo com resina trocadora de íons.....	45
5.5 – Determinação P-PO_4^{3-} pelo método azul de molibdênio.....	46

5.6 – Metodologia comparativa para determinação de NO_3^- e NH_4^+ no solo....	47
5.6.1 – Extração com $\text{KCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$	47
5.6.2 – Determinação de N-NH_4^+	48
5.6.3 – Determinação de N-NO_3^-	49
5.7 – Determinação de N total em material vegetal.....	50
5.8 – Porcentagem de umidade do solo.....	51
6 – Resultados e Discussão.....	53
6.1 – Métodos de extração de fósforo.....	53
6.2 – Comparação dos resultados de fósforo obtidos com a sonda potenciométrica e os métodos padrão de fósforo.....	56
6.3 – Efeitos de algumas variáveis sobre a resposta dos sensores seletivos a fósforo.....	60
6.4 – Estudo de correlação entre o potencial da sonda e os métodos de extração de fósforo.....	65
6.5 – Determinação de nitrato e amônio no solo.....	67
6.5.1 – Comparação dos resultados de nitrato e amônio obtidos com as sondas potenciométricas e o método padrão de determinação.....	69
7 – Conclusões.....	78
Referências.....	81

Capítulo 1

Introdução

1- Introdução

O solo é um recurso natural sobre o qual as plantas se desenvolvem para alimentar e abrigar o mundo. Dessa forma, entender a fertilidade do solo é compreender a necessidade básica para a produção vegetal.

A presença de nutrientes é um dos aspectos fundamentais que garantem a boa qualidade dos solos para um determinado plantio. Entre os nutrientes requeridos pelas plantas, o fósforo, apesar de ser o décimo segundo elemento químico mais abundante na crosta terrestre, é um dos que mais limita a produtividade das culturas alimentícias.

As plantas absorvem fósforo especificamente da solução do solo, a qual possui baixos teores de P em decorrência da baixa solubilidade dos seus compostos existentes no solo e da alta capacidade de adsorção do elemento pelas partículas do mesmo. Só uma pequena proporção do fósforo total do solo está prontamente disponível e diversos esforços têm sido dedicados à tentativa de desenvolver métodos de análise que predigam essa quantia de forma confiável, pois em solos tropicais, o fósforo movimenta-se muito pouco e geralmente permanece onde é adicionado. Existe uma variedade muito grande de métodos usados atualmente, envolvendo a extração do fósforo com soluções extratoras ou resina de troca iônica, o que não deixa de ser um reflexo da complexidade do comportamento do elemento, bem como da falta de concordância sobre qual seria o método mais adequado. A maioria dos métodos produz como resultado apenas uma estimativa do teor de fósforo na solução do solo e nos reservatórios prontamente disponíveis.

O problema está no processo de extração. 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 rigorosamente. Quando isso é feito, é possível a obtenção de resultados satisfatórios do ponto de vista prático, embora comparações entre regiões que usam diferentes métodos fiquem prejudicadas.

Um outro nutriente essencial para o crescimento das plantas é o nitrogênio (N), pois o mesmo é parte de cada uma de suas células. As plantas exigem grandes quantidades desse nutriente, pois o nitrogênio está diretamente relacionado a processos como a fotossíntese. Entretanto, o N não está diretamente disponível. Muito

pouco é encontrado nas rochas e nos minerais que formam o solo. A maior parte do nitrogênio vem da matéria orgânica que o libera lentamente, sendo a taxa de disponibilização controlada por fatores como temperatura, umidade e textura do solo.

Tendo em vista a essencialidade do nitrogênio para o desenvolvimento das culturas e sua baixa disponibilidade, a adubação nitrogenada é rotineiramente empregada como procedimento usual para a obtenção de um maior rendimento da produção agrícola.

Quando a adubação nitrogenada é utilizada de forma inadequada, pode provocar um desequilíbrio dos nutrientes essenciais, podendo gerar um aumento no custo de produção do cultivo, acarretando também no aparecimento de doenças nas plantas e efeitos ecológicos indesejáveis, tais como a eutrofização de águas superficiais. Além disso, pode causar impactos prejudiciais à saúde humana pela ocorrência de doenças, tais como, a metahemoglobina em crianças, que se dá pela ingestão de águas contaminadas por nitrato percolado de solos agrícolas. A poluição das águas e do solo constitui-se num dos mais sérios problemas ecológicos decorrentes da atividade humana na atualidade. Segundo o padrão de potabilidade da Organização Mundial de Saúde (OMS), uma água não deve ter mais do que 10 mg L^{-1} de NO_3^- .

De acordo com a literatura, existem alguns métodos utilizados para determinação de nitrogênio, sendo que os mais utilizados para determinação desse elemento nas formas de nitrato e amônio em águas e solos são: o método Kjeldahl e o método indofenol (reação de Berthelot).

O método Kjeldahl, em concentrações de N inferiores a 25 mg kg^{-1} apresenta altos valores de branco e para determinação de N nas formas N-NO_3^- e N-NO_2^- apresenta resultados muito variáveis, pois depende de fatores como a quantidade de água e de matéria orgânica presentes no solo. O método do indofenol apresenta valores altos e variáveis de branco e na faixa de concentração micromolar, a precisão é raramente melhor que 10%.

Frente aos problemas metodológicos para a determinação de N e P e a necessidade da determinação desses nutrientes no solo, neste trabalho foram empregados sensores íon-seletivos a base de membranas poliméricas para a

determinação e avaliação desses nutrientes em solos *in situ* e o fornecimento de informação em tempo real.

Capítulo 2

Objetivos

2- Objetivos

A proposta desse trabalho foi avaliar os sensores íon seletivos a fosfato, nitrato e amônio e sua instrumentação associada aplicados em campo para determinação em tempo real da variabilidade química em função de parâmetros físicos como temperatura e umidade e estabelecer uma metodologia para avaliar os sensores químicos na disponibilidade de P na forma de PO_4^{3-} e N mineral na forma de NO_3^- e NH_4^+ .

Capítulo 3

Revisão Bibliográfica

3 – Revisão Bibliográfica

3.1 – Solo

O solo, meio principal para o crescimento das plantas, é uma camada de material biologicamente ativo, resultante de transformações complexas que envolvem o intemperismo de rochas e minerais, a ciclagem de nutrientes e a produção e a decomposição da biomassa. Uma boa condição de funcionamento do solo é fundamental para garantir a capacidade produtiva dos agroecossistemas. Uma boa qualidade do solo é importante também para a preservação de outros serviços ambientais essenciais, incluindo o fluxo e a qualidade da água, a biodiversidade e o equilíbrio de gases atmosféricos (GUILHERME,2005).

A presença dos nutrientes é um dos aspectos fundamentais que garantem a boa qualidade dos solos e o seu adequado funcionamento, principalmente no caso de agroecossistemas. Em ecossistemas nativos, a ciclagem natural de nutrientes é a grande responsável pela manutenção de bom funcionamento do solo e do ecossistema como um todo. Essa ciclagem é fundamental para manter o estoque de nutrientes nos ecossistemas naturais, evitando a perda da fertilidade natural do solo.

A baixa fertilidade dos solos pode ter tanto causas naturais quanto antropogênicas. Como causas naturais, a gênese do solo e o intemperismo são os principais fatores determinantes da baixa fertilidade, particularmente em grande parte das regiões tropicais e subtropicais, onde a remoção de nutrientes do solo é mais acelerada devido às altas temperaturas e precipitações pluviométricas. Além das causas naturais, também as antropogênicas podem ser causadoras da baixa fertilidade dos solos provocada por sua retirada pelas culturas em níveis maiores que as adições via adubação (GUILHERME,2005).

3.1.2 - Fertilidade do Solo

Fertilidade do solo é a capacidade que o mesmo deve ter para prover os nutrientes requeridos para o crescimento das plantas. 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. A fertilidade do solo visa ao equilíbrio dos nutrientes para a planta, os quais podem afetar o crescimento da planta, a susceptibilidade a pestes e a qualidade do pós-colheita (CASFS,2004).

Um solo fértil não é necessariamente um solo produtivo. A segunda exigência principal é que o solo deve prover um ambiente satisfatório para o crescimento das plantas. 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.

3.2 - Fósforo

O fósforo (P) é um elemento essencial à vida. Suas funções no metabolismo animal e vegetal são tão importantes, que a maioria dos processos metabólicos de qualquer organismo é dependente da presença desse elemento. Devido a sua necessidade o fósforo não pode ser substituído por nenhum outro elemento nos sistemas biológicos.

A deficiência de fósforo é o fator que mais freqüentemente limita a reprodução e a produtividade, à exceção da água. Sendo parte integrante das moléculas de DNA e RNA, o fósforo participa de processos de reprodução e transmissão dos caracteres genéticos dos organismos.

O fósforo do solo ocorre quase que exclusivamente como ortofosfatos derivados do H_3PO_4 , que se combina em compostos de cálcio, ferro e alumínio e na matéria orgânica (CARDOSO, 1992).

Na maioria dos solos dos trópicos úmidos, o P é considerado um dos nutrientes mais limitantes à produtividade dos agroecossistemas (AE et al., 1990). O ciclo do P no solo é um processo dinâmico, onde ocorrem transformações entre formas orgânicas e inorgânicas (CARDOSO, 1992).

O P lábil, que regula o P da solução do solo e que é absorvido pelas plantas, varia em decorrência dos mecanismos físico-químicos e bioquímicos que ocorrem no solo, tais como a depleção de P pelas raízes das plantas, imobilização e

mineralização das frações orgânicas e adsorção e dessorção das frações inorgânicas (SAYAL & DE DATTA, 1991).

O P do solo é suprido pelo material de origem ou pela adição de fertilizantes fosfatados (TIESSEN et al., 1984). Segundo esses autores a maioria dos solos contém fosfato de cálcio no material de origem, o qual é hidrolizado durante seu desenvolvimento para suprir sua solução em P. O fósforo em solução pode fixar-se à superfície dos minerais, precipitar-se com vários cátions, ou ser incorporado na biomassa e na matéria orgânica do solo. Durante o intemperismo do solo, as bases e a sílica são removidas e os óxidos de ferro e alumínio aumentam sua concentração relativa, permitindo a formação de fosfatos secundários de ferro e alumínio (HSU, 1977 citado por FERNANDES et al., 1998). A abundância relativa dos minerais primários, ligados ao cálcio, os fosfatos inorgânicos secundários e o P orgânico, podem ser usados para inferir sobre o processo de intemperismo do solo (WALKER & SYERS, 1976). Assim a natureza e a distribuição das formas de P no solo fornecem informações adicionais na avaliação da disponibilidade de P e na estimativa da intemperização química (MACHADO et al., 1993).

3.2.1 - Fósforo e a Fertilidade do Solo

Dentre 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).

3.2.2 - Movimentação do Fósforo nos Solos

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 (RAIJ, 1991).

Em solos tropicais, o fósforo possui pouca movimentação e geralmente permanece onde é colocado na forma de adubos. 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).

3.2.3 - 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 quantia de forma confiável.

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 (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. (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 (RAIJ, 1991), mas os métodos Mehlich 1 e Mehlich 3 também são bastante usados (YAMADA & ABDALLA, 2004)

3.3 - Métodos de Extração de Fósforo no Solo

3.3.1 - Mehlich -1

A solução extratora de Mehlich 1, também chamada de solução dupla-ácida ou de Carolina do Norte, é constituída por uma mistura de HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,0125 \text{ mol L}^{-1}$. O emprego dessa solução como extratora de fósforo baseia-se na solubilização desses elementos pelo efeito pH, entre 2 e 3, sendo o papel do Cl^- o de restringir o processo de readsorção dos fosfatos recém-extraídos.

O fósforo extraído é determinado espectrofotometricamente, por meio da leitura da intensidade da cor do complexo fosfomolibdico, produzido pela redução do molibdato com o ácido ascórbico (SILVA, 1999).

3.3.2 - Mehlich -3

A solução ácida com íon complexante mais empregada para a extração de fósforo é a mistura de HCl com NH_4F , atuando o íon fluoreto mais eficientemente na formação de um forte complexo com íons Al^{3+} , liberando, assim, o fósforo ligado ao metal. O fósforo presente no solo, como fosfato de cálcio, também é extraído pela precipitação de fluoreto de cálcio. A concentração do cálcio tem variado de $0,025$ a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, enquanto a de NH_4F fica em geral ao redor de $0,03 \text{ mol L}^{-1}$. Portanto, Mehlich -3 tem sua ação baseada na presença de íon fluoreto e no pH ácido. A última versão do método foi diferenciada da anterior pela substituição do ânion cloreto pelo nitrato, eliminando o efeito corrosivo do extrator, e pela adição do EDTA para complexar os micronutrientes, melhorando a sua extratabilidade (SILVA, 1999).

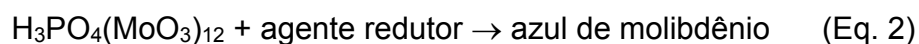
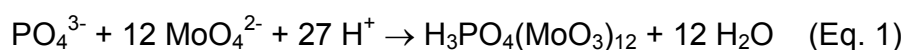
3.3.3 - Resina de Troca Iônica

O processo de extração utilizando resina de troca iônica permite a avaliação do chamado fósforo lábil, pela sua transferência, por dissolução gradativa de compostos fosfatados, da fase sólida do solo para a resina, por meio da solução aquosa. A extração é feita com uma mistura de resina catiônica e aniônica, saturadas com bicarbonato de sódio, o que apresenta várias vantagens: O íon bicarbonato tampona o meio e facilita a extração de fósforo; a resina catiônica saturada com sódio retira os cátions de valência mais alta da solução, favorecendo também a transferência de fósforo do solo para a resina; a resina aniônica permite a extração dos cátions trocáveis, que transferem, em grande parte, do solo para a resina, principalmente se os teores não forem muito altos (SILVA, 1999).

3.4 - Métodos de Determinação de Fósforo

3.4.1 - Método Azul de Molibdênio

Para determinação de fosfato em baixas concentrações é recomendado o método espectrofotométrico azul de molibdênio (AOAC, 1995). O método é um dos mais recomendados para a determinação de fósforo (ESTELA & CERDÁ, 2005) e consiste na condensação dos íons ortofosfato e molibdato em solução ácida para formação do ácido molibdofosfórico (Equação 1) que, por redução (estado de oxidação +6 para +5) produz um complexo de coloração azul, cuja composição é incerta (Equação 2). A intensidade da cor azul é proporcional à quantidade de fosfato inicialmente incorporada ao heteropoliácido (BASSETT et al., 1981) Os agentes redutores mais empregados são ácido ascórbico e cloreto estano.



A reação de redução com ácido ascórbico é relativamente lenta, mas a velocidade pode ser aumentada adicionando antimônio como catalisador. Empregando cloreto estanoso, a sensibilidade é maior, sendo a reação de redução rápida. No entanto, o desenvolvimento da cor é instável e difícil de ser reproduzido (ESTELA & CERDÁ, 2005).

Os íons que formam heteropoliácidos, como silicato, arsenato, germanato e tungstato são interferentes, assim como agentes oxidantes e redutores. A instabilidade dos agentes redutores empregados no método azul de molibênio tem sido estudada na tentativa de substituí-los por redução eletroquímica (MARUCHI, 2005).

3.5 – Nitrogênio

O nitrogênio é um dos elementos mais abundantes na terra. 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) e a deficiência de N é, provavelmente o problema mais comum entre as plantas do mundo inteiro. A maior parte do nitrogênio disponível está na forma inorgânica (NO_3^- e NH_4^+). O nitrogênio é continuamente reciclado pelas plantas e animais. Nas águas subterrâneas, os nitratos ocorrem em teores em geral abaixo de 5 mg/L. Nitritos e NH_4^+ são ausentes, pois são rapidamente convertidos a nitrato pelas bactérias (LAQUANA, 2006). O nitrogênio é um componente necessário para a estrutura e funções celulares. Está diretamente relacionado à fotossíntese, faz parte de diferentes vitaminas e ajuda na produção e no uso dos carboidratos, além de possuir papel crucial nas reações enzimáticas (LOPES, 1989).

3.5.1 - Nitrogênio no Solo

O nitrogênio apresenta-se nas rochas, solos e sedimentos em diferentes formas, entre as quais: NH_3 , NH_4^+ , NO_x ou N ligado quimicamente a moléculas orgânicas ou inorgânicas. Os íons NH_4^+ nos solos e sedimentos podem estar

fracamente adsorvidos na superfície (NH_4^+ trocável) ou fixos nos espaços interlamelares dos minerais argilosos (NH_4^+ fixo). As formas envolvidas nos equilíbrios dependem da concentração de N total, da atividade bacteriana, das condições redox e da qualidade da fase aquosa associada (SILVA et al., 2006)

A quantidade de N suprida pela maioria dos solos é pequena. 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 às substâncias húmicas presentes no 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 está disponível na forma orgânica, presente na matéria orgânica do solo ou nos organismos vivos. Essa forma não é facilmente disponível para as plantas, mas pode ser convertida às formas disponíveis através de microorganismos. 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 está presente, dissolvido na solução do solo (LOPES, 1989).

3.5.2 - Adubação Nitrogenada

A fertilização com nitrogênio apresenta-se como essencial para que a produção de alimentos nos últimos 50 anos fosse triplicada. A produção mundial de grãos era 631 milhões de toneladas em 1950 (247 kg/pessoa) e no ano de 2000, atingiu 1840 toneladas, o equivalente a 303 kg/pessoa.

Desde 1962 a produção anual de fertilizantes nitrogenados aumentou de 13,5 para, em 2001, 86,4 Tg ($1\text{Tg} = 10^{12}\text{ g}$) (FAO, 2004). No entanto infelizmente, a distribuição dos fertilizantes nitrogenados não é uniforme; em algumas áreas do mundo, como na África próximo ao deserto do Saara, pouco N é utilizado (GREENLAND, 1988 ; SYERS, 1997).

Por outro lado, em algumas áreas do mundo (e.g. Europa), algumas vezes ocorre emprego excessivo de N, que pode causar problemas diretamente relacionados à saúde humana (tais como doenças respiratórias induzidas pelas altas concentrações

de ozônio e particulados) e vulnerabilidade do ecossistema (acidificação dos solos e eutrofização dos ambientes costeiros) (BOYER & HOWARTH, 2002).

Uma preocupação no âmbito mundial é a contaminação de recursos hídricos com nitrato percolado de solos agrícolas. A grande mobilidade do íon NO_3^- no solo, aliada à crescente utilização de fertilizantes nitrogenados, gera uma grande preocupação em diversas áreas do planeta, por causa da eutrofização de águas superficiais e da contaminação de águas subterrâneas, as quais, muitas vezes, são a principal fonte desse recurso natural para grandes populações (MUCHOVEJ & RECHCIGL, 1995).

A poluição das águas e do solo constitui-se num dos mais sérios problemas ecológicos decorrentes da atividade humana da atualidade.

Embora inicialmente fosse julgado que as perdas de NO_3^- por lixiviação em solos brasileiros fossem mínimas (VITOUSEK, 1983; REIS e BARROS, 1990), devido à existência de cargas elétricas positivas em profundidade no solo (DYNIA, 2000), verifica-se em estudos recentes que mesmo Latossolos podem apresentar lixiviação de nitrato. OLIVEIRA et al. (2001), observaram perdas acima de $100 \text{ kg NO}_3^- \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ em solos que receberam lodo de esgoto ou mesmo adubação nitrogenada convencional para a cultura da cana-de-açúcar. Lixiviação de NO_3^- dessa magnitude representa um óbvio problema ambiental. Mesmo em solos eletropositivos e com alto teor de argila, DYNIA (2000) observou que o NO_3^- movimenta-se além da zona de exploração radicular da maioria das culturas, alcança profundidades entre 2 e 6 m e acumula-se nessa região. Além disso, a lixiviação de NO_3^- também contribui para aumentar a lixiviação de Ca e Mg (CAHN et al., 1993).

Uma alternativa para solucionar os problemas provocados por um manejo inadequado do solo e suas conseqüências seria o estabelecimento de processos racionais e controlados que dependessem, a todo momento, das condições e características do terreno, do cultivo e/ou das plantas implicadas e do rendimento da produção que se deseja. O desenho destes processos racionais requer análise do solo mais contínua e específica, obtendo-se informações de diferentes pontos do campo, características de uma tendência atual na agricultura.

3.5.3 - Métodos de Determinação de Nitrogênio

A determinação de nitrogênio total (N_{total}) em solos e outros materiais heterogêneos complexos contendo várias formas de nitrogênio apresenta muitas dificuldades devido ao desconhecimento das formas de nitrogênio presentes na amostra (PONTES et al., 2004).

A determinação de NO_3^- e NH_4^+ em solos é baseado na formação de complexos coloridos com esses íons (reação de Berthelot), após extração dos mesmos, através de processos como destilação (método Kjeldahl) ou extração (KCl) os quais serão descritos a seguir.

3.5.3.1 - Método Kjeldahl

A técnica de decomposição por via úmida, seguida por destilação a vapor e titulação para a quantificação do nitrogênio amoniacal (N-NH_4^+). Proposta por Kjeldahl em 1883, tem sido utilizada para a determinação de N_{Total} em diferentes materiais (YASUHARA e NOKIHARA, 2001). O método de Kjeldahl baseado na conversão do N a íon amônio (NH_4^+) por digestão da amostra com ácido sulfúrico concentrado na presença de K_2SO_4 (para elevar o ponto de ebulição do ácido), contendo catalisadores como o (CuSO_4), que aceleram a oxidação da matéria orgânica em N-NH_4^+ . Como este é uma espécie iônica, não há problemas de perda por volatilização. A mistura é alcalinizada com NaOH aquoso e o NH_4^+ é convertido a NH_3 , que é destilado por arraste a vapor, complexado em ácido bórico com indicador misto e titulado com solução padronizada de H_2SO_4 ou HCl (MALAVOLTA et al., 1989).

Para determinação das frações NO_3^- e NO_2^- presentes na amostras, adiciona-se liga de Dervada (reagente que contém cobre, alumínio e zinco, na proporção de 50:45:5). Dessa maneira, ocorre a redução do NO_3^- e NO_2^- a NH_4^+ , pela oxidação da liga de Dervada em meio ácido que pode ser determinada seguindo o procedimento mencionado acima.

3.5.3.2 – Extração com KCl

Extração de amônio e nitrato (e nitrito) do solo com solução de KCl a 1 mol L⁻¹, sendo a quantificação feita por titulação, após arraste a vapor da amônia formada com a alcalinização do extrato pela adição de óxidos de magnésio. O nitrato (e nitrito) é incluído após redução a amônio pela adição da liga de Dervada (NOGUEIRA & SOUZA, 2005).

3.5.3.3 - Método Azul de Indofenol – Reação de Berthelot

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 & 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).

3.5 - Agricultura de Precisão

A agricultura de precisão é uma forma de gerenciamento agrícola que parte de informações exatas, precisas e se completa com decisões exatas. Trata-se de uma maneira de gerir um campo produtivo metro a metro, levando em conta o fato de que cada pedaço da fazenda tem propriedades diferentes (ROZA, 2000).

O termo agricultura de precisão engloba o uso de tecnologias atuais para o manejo do solo, insumos e culturas, de modo adequado às variações espaciais e temporais em fatores que afetam a produtividade das mesmas (EMBRAPA, 1997).

As etapas básicas do sistema de agricultura de precisão são: a coleta de dados, o planejamento do gerenciamento, e a aplicação localizada dos insumos.

O uso da agricultura de precisão tem como objetivo o aumento da eficiência, com base no manejo diferenciado de áreas na agricultura, não consiste simplesmente na habilidade em aplicar tratamentos que variam de local para local, porém, deve ser considerada como a habilidade em monitorar e acessar a atividade agrícola, precisamente em um nível local, tanto que as técnicas de agricultura de precisão devem ser compreendidas como uma forma de manejo sustentável, na qual as mudanças ocorrem sem prejuízos para as reservas naturais, ao mesmo tempo em que danos ao meio ambiente são minimizados. Definição que engloba a idéia de compromisso no uso da terra, relativamente às gerações futuras. Um manejo sustentável implica algo mais além da manutenção dos índices de produtividade (MANTOVANI et al., 1998)

O uso racional dessas tecnologias, utilizadas como ferramentas de acompanhamento, controle e análise, permitem verificar as variações espaciais e temporais dos fatores limitantes à produção, orientando no processo de tomada de decisão na aplicação localizada de insumos e no manejo diferenciado das culturas no campo de produção. Assim, pode-se determinar "qual, quando e onde" o insumo deve ser aplicado e "como" fazê-lo, permitindo identificar locais específicos com diferentes potenciais de produtividade, podendo-se determinar ou não, desde que econômica e tecnicamente viáveis, investimentos em insumos ou na correção de fatores limitantes à produção, visando a maximização da produtividade e minimização dos impactos ambientais. O principal conceito é aplicar no local correto, no momento adequado, as quantidades de insumos necessários à produção agrícola, para áreas cada vez menores e mais homogêneas, tanto quanto a tecnologia e os custos envolvidos permitirem.

De maneira geral, a agricultura de precisão procura por uma diminuição de custos de produção, com aumento da produtividade e diminuição de impacto ambiental. Isso só é possível porque qualquer operação está baseada em suas etapas básicas: a coleta de dados, o planejamento do gerenciamento, e a aplicação localizada dos insumos sempre localizada e nas proporções necessárias.

3.6 - Análise Direta de Solo

O processo de uma análise química possui uma série de etapas a serem cumpridas para a produção de resultados confiáveis. Inevitavelmente, na maioria das determinações físico-químicas se faz necessário realizar-se a amostragem e o pré-tratamento das amostras, etapas extremamente laboriosas, onde se cometem mais erros e mais tempo é gasto (KRUG, 1998). Particularmente o processo de análise de solos para fins de fertilidade é ainda mais crítico, pois os resultados devem refletir os teores de minerais que estariam disponíveis para o cultivo. Por isso, os passos de um procedimento de pré-tratamento e amostragem deverão ser sempre considerados cuidadosamente.

Procedimentos envolvendo o emprego de métodos automatizados inicialmente foram desenvolvidos visando principalmente à etapa da quantificação, como foi o caso dos sistemas de análise por injeção em fluxo. Entretanto, ainda não se ocupava em automatizar o processo de pré-tratamento ou de amostragem, mantendo-se ainda o gargalo do processo analítico (LEMOS, 2004).

Existem na literatura vários artigos que descrevem métodos para determinação de parâmetros inerentes à análise de extratos de solos. Uma vez obtidos esses extratos, determina-se o pH com o emprego de eletrodos de vidro integrados em sistemas de fluxo (EDMONDS & COUTTS, 1983), ou empregando estações robotizadas (TORRES et al., 1993).

Esses procedimentos não eliminam as etapas de tratamento prévio da amostra, permitindo apenas automatizar o processo final de medida.

Atualmente, os objetivos das pesquisas neste campo estão voltados à obtenção de informações sobre as propriedades do solo ou da planta sem a necessidade de métodos de extração e análise caros e demorados. Tentativas de inclusão da etapa de preparo aos procedimentos de determinação empregando sistemas em fluxos foram realizados (CHEN et al., 1989, KAMOGAWA et al., 2001). Nesses casos, ainda persistem os problemas relacionados à coleta no campo, transferência ao laboratório e as dificuldades relativas à substituição das amostras durante as determinações.

Dentre as tecnologias desenvolvidas, as pesquisas mais promissoras estão na área de sensoriamento, tanto que nos últimos anos, instrumentos baseados no contato direto ou sensoriamento remoto próximo ao solo ou da planta têm sido introduzidos.

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).

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 espectroscopia, dando possibilidade de criação de sistema de análise “in situ” (MADOU & MORRISON, 1989).

3.7 - Sensores Químicos

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. 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. O sensor químico pode ser dividido em três partes. 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.

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 (projeto de construção e instrumentação eletrônica) mais simples para a operação. Além disso, apresentam maiores faixas lineares de trabalho e excelente seletividade. Isso se reflete no grande número de trabalhos na literatura que empregam o 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 (ARTIGAS, 2003)

3.7.1 - 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).

3.7.1.1 – 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.

3.7.2 – Ionóforo

O termo ionóforo é usado para descrever ligantes que seletivamente associam-se a íons. Tipicamente, são moléculas macrocíclicas com um íon ligado numa cavidade de dimensões bem definidas. A seletividade está baseada na relação entre as dimensões do íon com sítios ligantes. Éteres coroa constituem a classe mais conhecida de ionóforos, porém muitos outros tipos de moléculas, de ocorrência sintética ou natural, agem como ionóforo, tais como metil-monesin para íons sódio, bis-(benzil-15-éter coroa-5)-heptano para íons potássio e a própria nonactina para íons amônio (JÚNIOR, et al., 1998)

Ionóforos têm tido grande impacto no desenvolvimento de eletrodos de membrana seletiva, baseados na diferença de potencial associada à interação entre o íon de interesse com o sítio ativo do ligante. Em adição à grande seletividade, ionóforos neutros usados em eletrodos íon-seletivos não estão sujeitos à protonação e, assim, têm constantes de equilíbrio para o íon ligante que não são afetadas pelo pH.

A construção de eletrodos íon-seletivos de membranas poliméricas, como alternativa ao uso de membranas constituídas por um sensor líquido suportado numa película inerte porosa, tem tido grande interesse nos últimos anos (GHAURI & THOMAS, 1994), principalmente no desenvolvimento de microeletrodos (DE BEER & VAN DEN HEUVEL, 1998) e biossensores (NETO et al., 1994) destinados a elevado número de determinações analíticas, tais como: taxa sanguínea de glicose, uréia, ácido

úrico, colesterol, tirosina, oxalato, salicilato, entre os principais metabólitos, cuja concentração seja relevante ao diagnóstico clínico.

Capítulo 4

Materiais e Métodos

4 - Materiais e Métodos

4.1 – Amostras

As amostras utilizadas durante o desenvolvimento de todo o trabalho foram solos sem e com cobertura vegetal, provenientes respectivamente de áreas externas da Embrapa Instrumentação Agropecuária e da Embrapa Pecuária Sudeste. Amostras da vegetação plantada junto às sondas instaladas na Embrapa Pecuária Sudeste (*Paspalum notatum*) também foram coletadas e seus teores de nitrogênio determinados.

4.2.1 – Reagentes

Os seguintes reagentes, com as respectivas procedências, foram utilizados durante o desenvolvimento do trabalho:

Tartarato duplo de antimônio e potássio - $[K(SbO_2)C_4H_4O_6 \cdot \frac{1}{2} H_2O]$ – Vetec – Rio de Janeiro

Ácido acético - Qhemis

Ácido ascórbico – Vetec

Ácido bórico – Dinâmica

Ácido clorídrico - Mallinckrodt

Ácido nítrico - Quimex

Ácido salicílico – Synth

Ácido sulfúrico - Quimex

Cloreto de amônio – Vetec

Cloreto de Polivinila (PVC) - Fluka

Cloreto de potássio - Synth

Etileno diamino tetraacético - EDTA- Na_2 - Nuclear

Fluoreto de amônio - Synth

Fosfato de potássio monobásico - Synth

Hidróxido de sódio – Qhemis

Hipoclorito de sódio – Super candíra

Molibdato de amônio, $[(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ - Vetec

Nitrato de amônio - Quimex

Nitroprussiato de sódio – Vetec

Sulfato de cobre - Vetec

Sulfato de potássio - Ecibra

Tetrahidrofurano (THF) – Fluka

Verde de bromocresol – Nuclear

Vermelho de metila – Nuclear

4.2 - Reagentes e Soluções

Para todos os experimentos foram utilizados reagentes de grau analítico, água ultrapura para o preparo de soluções, destilada e desionizada para limpeza de todo material, além de banho 10% em ácido nítrico para descontaminação.

Solução fosfato de potássio monobásico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foi preparada dissolvendo-se 1,36 g de K_2HPO_4 em 100 mL de água. Essa solução foi adicionada ao solo sem cobertura vegetal, onde foi instalada a sonda contendo sensores íon seletivos a P-PO_4^{3-} .

O sal NH_4NO_3 na forma sólida e em solução $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ foi adicionado diretamente ao solo com cobertura vegetal, contendo quatro sondas, cada uma com 2 sensores seletivos a nitrato e 2 sensores seletivos a amônio, para verificação da variação do potencial dos sensores de NH_4^+ e NO_3^- .

4.2.1 - Métodos de Extração de Fósforo

Foram utilizados os métodos Mehlich -1, Mehlich -3 e resina de troca iônica (SILVA, 1999) uma vez que os mesmos são os mais recomendados na literatura para extração desse nutriente no solo para fins de fertilidade.

4.2.1.1 – Mehlich -1

A solução extratora duplo-ácida foi preparada adicionando 8,6 mL de HCl e 1,4 mL de H₂SO₄ em 2 L de água desionizada, referentes a concentração final de 0,05 mol L⁻¹ HCl e 0,0125 mol L⁻¹ H₂SO₄.

4.2.1.2 - Mehlich -3

Solução-estoque de NH₄F 3,75 mol L⁻¹ + EDTA 0,25 mol L⁻¹ foi preparada dissolvendo-se 13,89 g de NH₄F e 7,31 g de EDTA em 100 mL de água desionizada. Essa solução foi armazenada em frasco escuro.

A Solução extratora Mehlich -3 (CH₃COOH 0,2 mol L⁻¹ + NH₄NO₃ 0,25 mol L⁻¹ + NH₄F 0,015 mol L⁻¹ + HNO₃ 0,013 mol L⁻¹ + EDTA 0,001 mol L⁻¹) foi preparada pesando-se 40 g de NH₄NO₃ e adicionando-se: 16 mL da solução estoque (NH₄F 3,15 mol L⁻¹ + EDTA 0,25 mol L⁻¹), 22,86 mL de CH₃COOH e 1,64 mL de HNO₃ em 2 L de água desionizada.

4.2.1.3 - Extração com Resina de Troca de Íons

Essa solução extratora é composta da resina trocadora de ânions e água numa proporção 1:1 resina /solo. Antes da extração é necessário o condicionamento inicial da resina, que foi efetuado segundo procedimento descrito por RAIJ et al. (1987).

4.2.1.4 - Soluções Padrão de Fósforo Utilizadas em Cada Método de Extração

A solução padrão estoque de fósforo 100 mg L⁻¹ foi preparada dissolvendo 0,044 g de KH₂PO₄ (previamente seco à temperatura 105 °C) diretamente nas soluções referentes a cada extrator avaliado, com volume completado para 100 mL da solução (HCl 0,05 mol L⁻¹+ H₂SO₄ 0,0125 mol L⁻¹) quando o método de extração usado foi o Mehlich -1; solução extratora (CH₃COOH 0,2 mol L⁻¹ + NH₄NO₃ 0,25 mol L⁻¹ + NH₄F

0,015 mol L⁻¹ + HNO₃ 0,013 mol L⁻¹ + EDTA 0,001 mol L⁻¹) quando o método de extração usado foi o Mehlich -3 e solução extratora NH₄Cl 0,8 mol L⁻¹ e HCl 0,2 mol L⁻¹ para determinação de fósforo pelo método da resina.

4.3 – Instrumentação

O sistema em fluxo utilizado para determinação de P-PO₄³⁻, era composto por um injetor comutador de acrílico modelo 1:3 para introdução da amostra, bomba peristáltica de rotação variável (Ismaltec, modelo IPC 8), provida de tubos de Tygon com diferentes diâmetros internos para o bombeamento das soluções, tubos de polietileno (0,8 mm di) para condução do fluxo, uma bobina de reação para promover maior contato entre as soluções e banho termostático Solab para acelerar a reação. A detecção da concentração de P-PO₄³⁻ foi realizada por um espectrofotômetro de absorção molecular (UV-VIS) FEMTO, modelo 423.

O sistema em fluxo utilizado para determinação de NH₄⁺ e NO₃⁻, era composto por um injetor comutador de acrílico modelo 1:3 para introdução da amostra, bomba peristáltica de rotação variável (Ismaltec, modelo IPC 8), provida de tubos de Tygon com diferentes diâmetros internos para o bombeamento das soluções, tubos de polietileno (0,8 mm di) para condução do fluxo, coluna redutora de zinco: confeccionada a partir de um tubo Tygon[®] (2 mm d. i.) preenchido com zinco metálico (20 mesh) e espuma de poliuretana nas extremidades, para redução de NO₃⁻ a NH₃(g), 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 para difusão da NH₃(g) e duas bobinas de reação para promover maior contato entre as soluções. A detecção da concentração de NH₄⁺ e NO₃⁻ foi realizada por um espectrofotômetro de absorção molecular (UV-VIS) FEMTO, modelo 423.

4.4 - Determinação de Fósforo

4.4.1 - Método do Azul de Molibdênio

A determinação de fósforo após a extração com Mehlich -1, Mehlich -3 e resina de troca iônica foi feita utilizando o método azul de molibdênio (AOAC, 1995) utilizando um sistema de análise em fluxo (FIA).

A amostra contendo $P-PO_4^{3-}$ é inserida em um fluxo transportador contendo as diferentes soluções extratoras (as determinações foram feitas separadamente para cada método de extração avaliado). O fluxo transportador era em seguida recebido por uma solução diluída de molibdato e tartarato de amônio formando, o complexo molíbdico (H_2MoO_4). O composto formado recebia então uma solução de ácido ascórbico, produzindo uma coloração azul que foi determinada por espectrofotometria (700 nm).

A solução ácida de molibdato e tartarato de amônio foi preparada dissolvendo-se 50 g de molibdato de amônio $[(NH_4)_6 Mo_7O_{24}.4H_2O]$ e 1,212 g de tartarato duplo de antimônio e potássio $[K(SbO_2)C_4H_4O_6 \frac{1}{2} H_2O]$ em 200 mL de água desionizada, aos quais foram adicionados 700 mL de H_2SO_4 concentrado, sendo o volume final, aferido para 1000 mL com água desionizada. Essa solução foi estocada em frasco escuro (solução A).

Solução ácida de molibdato e tartarato de amônio diluída foi preparada transferindo 300 mL da solução A para frasco de 1000 mL, completando-se o volume com água desionizada.

Solução de ácido ascórbico foi preparada dissolvendo 1 g de ácido ascórbico em 100 mL de água desionizada. Essa solução foi preparada diariamente.

4.4.2 - Determinação de NH_4^+ e NO_3^-

A determinação de NH_4^+ e NO_3^- , após extração com solução de KCl 1 mol L^{-1} , foi realizada utilizando-se um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA).

A amostra contendo NH_4^+ foi inserida em um fluxo transportador contendo uma solução alcalina de NaOH 6%, EDTA 2% e CuSO_4 0,01%. Assim, quando a amostra contendo NH_4^+ entra em contato com essa solução o NH_4^+ é convertida a $\text{NH}_{3(g)}$, que, ao passar por uma célula de difusão gasosa, passa pela membrana hidrofóbica e em seguida é recebida em um fluxo secundário de NaOH $0,75 \text{ mol L}^{-1}$, onde é reconvertido à NH_4^+ . E a seguir recebe reagente composto por ácido salicílico, nitroprussiato de sódio e hipoclorito e então é direcionado ao espectrofotômetro para a determinação colorimétrica com comprimento de onda de 660 nm. Para a determinação do NO_3^- foi inserido no sistema uma coluna empacotada contendo zinco metálico, com o objetivo de reduzir o nitrato presente na amostra a $\text{NH}_{3(g)}$, direcionada à célula de difusão gasosa e determinada da mesma forma descrita para a determinação de amônio.

A solução alcalina utilizada para redução do amônio foi preparada dissolvendo-se 60 g de NaOH, 20 g de EDTA e 0,01 g de CuSO_4 em 1000 mL de água desionizada.

A solução receptora, $0,75 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH, foi preparada dissolvendo-se 30 g de NaOH em 1000 mL de água desionizada.

A solução de ácido salicílico, nitroprussiato de sódio e citrato de sódio foi preparada dissolvendo-se 5 g de citrato de sódio, 0,5 g de nitroprussiato de sódio e 27,62 g de ácido salicílico em solução de NaOH $0,35 \text{ mol L}^{-1}$, preparada dissolvendo-se 14 g de NaOH em 1000 mL de água desionizada.

Solução analítica estoque de 1000 mg L^{-1} de N foi preparada dissolvendo-se 2,857 g NH_4NO_3 em 1000 mL de solução KCl 1 mol L^{-1} . Após diluições dessa solução, foi confeccionada a curva analítica para a determinação de nitrogênio em extratos de solo.

4.4.3 - Determinação de N (total) em Material Vegetal

Nesse método de determinação ocorre a redução do nitrogênio amoniacal $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ em amônia (NH_3), a qual é fixada pelo ácido bórico e posteriormente titulada com H_2SO_4 até a nova formação de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ na presença de indicador de ácido/base (método Kjeldhal).

Foram utilizados os seguintes reagentes durante essa determinação: NaOH 10 mol L⁻¹, H₂SO₄ concentrado, H₂SO₄ 0,05 mol L⁻¹, ácido bórico com indicadores verde de bromocresol e vermelho de metila e mistura catalisadora (K₂SO₄ + CuSO₄).

A solução de NaOH 10 mol L⁻¹ foi preparada dissolvendo-se 400 g desse reagente em 1000 mL de água desionizada.

A solução receptora indicadora de ácido bórico foi preparada dissolvendo 20 g de ácido bórico em 1000 mL de água destilada a qual foram adicionados 15 mL de uma solução alcoólica de verde de bromocresol a 0,1% m/v e 6 mL de solução alcoólica de vermelho de metila a 0,1% m/v.

A mistura catalisadora foi preparada na proporção 10:1 em peso dos sais K₂SO₄ e CuSO₄.

A solução H₂SO₄ 0,05 mol L⁻¹ foi preparada a partir da diluição do H₂SO₄ concentrado (18 mol L⁻¹).

4.5 - Construção do Eletrodo

Os sensores empregados foram desenvolvidos pelo Grupo de Sensores e Biossensores da Universidade Autônoma de Barcelona (GSB/UAB). Foram utilizados eletrodos íon-seletivos (ISE) de configuração convencional, de construção mais simples, menor nível de ruído e maior robustez.

Para confecção desses sensores foram utilizados: tubo de PVC (6 mm de diâmetro interno, 18 mm de comprimento) e um conector fêmea de 2 mm soldado a uma peça circular de cobre. Após montagem do sensor, foi depositado sobre a superfície da peça circular de cobre um transdutor grafite-epóxi. 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, a qual foi seca a 70°C por 24 h (LE MOS, 2005). A esse transdutor foi adicionada uma membrana polimérica. Maiores detalhes dessa montagem são apresentados no item 4.1 e no procedimento experimental.

4.5.1 - Preparação das Membranas

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. Essa mistura é dissolvida usando tetrahidrofurano (THF) na seguinte proporção: 0,05 mL de THF para cada grama de cloreto de polivinila (PVC).

4.5.2 – Construção da sonda analítica para determinação de fósforo *in situ*

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 dois sensores fixos a duas alturas distintas (5 e 20 cm). Ao lado dos dois sensores químicos 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, localizada na parte superior da sonda. Nessa 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 foram incorporados ao 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 foram encaixados no corpo da sonda de acordo com a configuração demonstrada na Figura 4.1, onde se pode observar que estão instalados 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.

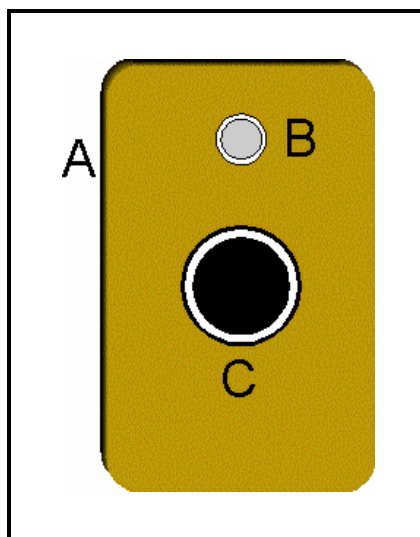


FIGURA 4.1 - Vista frontal do sensor na forma como fica instalado no corpo da sonda utilizada no trabalho. (A) Placa de cobre (eletrodo de referência); (B) orifício pelo qual se injetam soluções padrão do analito para a calibração do sensor; (C) sensor íon-seletivo.

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 trabalho. A transmissão dos dados é digital e utiliza protocolo de comunicação RS-485. O programa de aquisição foi desenvolvido em linguagem gráfica de programação (LabVIEW™, National Instruments). Active X foi utilizada 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 4.2 4.3 e 4.4 tem-se a visualização da sonda analítica, da janela do programa desenvolvido para o gerenciamento da sonda analítica e da janela da planilha eletrônica responsável pelo armazenamento dos dados obtidos, respectivamente.

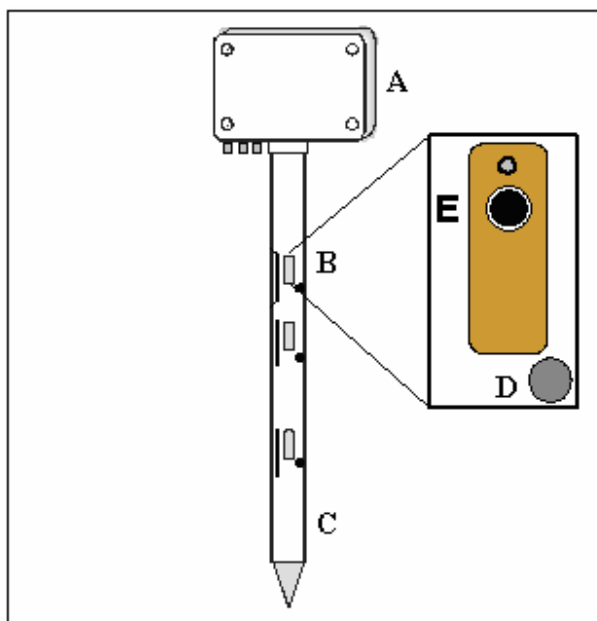


FIGURA 4.2 - Desenho esquemático da sonda construída. (A) Caixa contendo a instrumentação eletrônica de controle dos sensores químicos e físicos (temperatura); (B) um dos sensores adaptados ao corpo da sonda e; (C) tubo de PVC; (D) sensor de temperatura; (E) sensor íon-seletivo de configuração convencional.

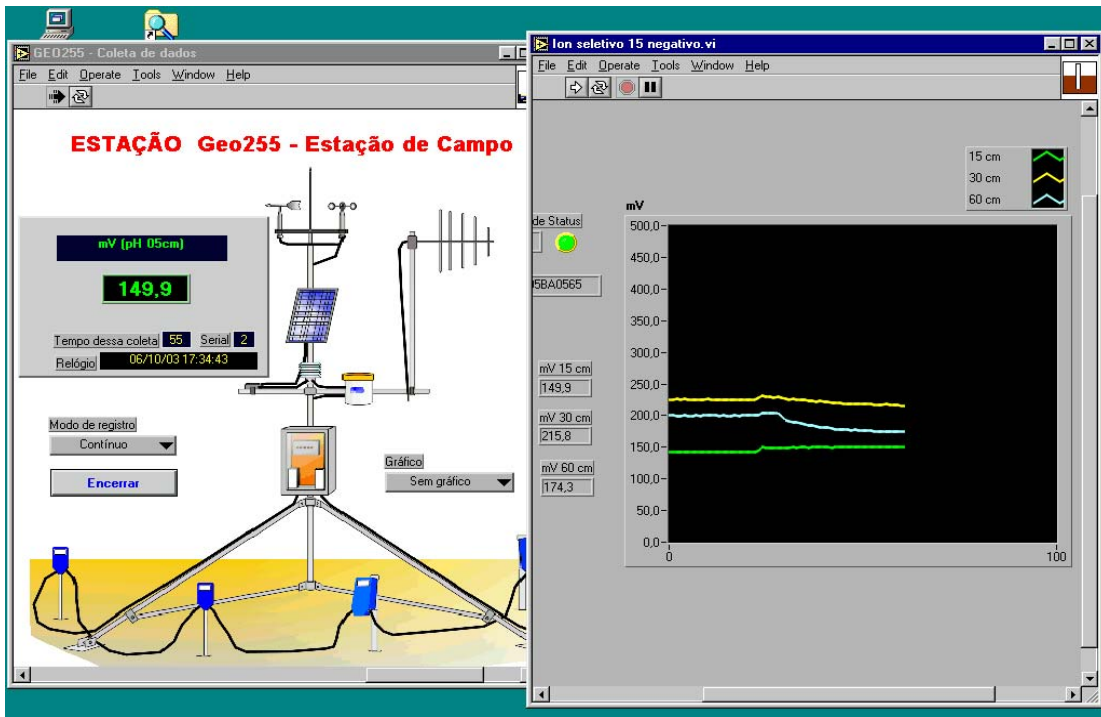


FIGURA 4.3 - Janelas do programa desenvolvido para o gerenciamento da sonda analítica.

		mV pH 05cm	mV pH 20cm	mV pH 50cm	T.Solo 1(05cm.) °C	T.Solo 1(20cm.) °C	T.Solo 1(50cm.) °C
331	Total/hora						
332	GEO 255						
333							
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	GEO 255						
347	Minimas				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	GEO 255						
351	Total/hora						
352	GEO 255						

FIGURA 4.4 - Planilha eletrônica responsável pelo armazenamento dos dados obtidos.

4.5.3 – Construção das sondas analíticas para determinação de NH_4^+ e NO_3^- *in situ*

Quatro sondas com a incorporação de quatro sensores eletroquímicos a 20 cm de profundidade foram construídas, seguindo o mesmo procedimento da sonda de fósforo, assim como a instrumentação associada necessária para coletar, armazenar e processar os dados de forma automatizada. As sondas desenvolvidas possuem características similares à anterior, que opera com quatro sensores em cada profundidade e um sensor de temperatura. Dessa forma, proporcionou-se o desenvolvimento de um protótipo de sistema analítico de monitoramento de NH_4^+ e NO_3^- . As sondas construídas para NO_3^- e NH_4^+ podem ser vistas na Figura 4.5



Figura 4.5 – Foto das quatro sondas analíticas utilizadas para determinação de NH_4^+ e NO_3^- .

Capítulo 5

Procedimento Experimental

5 - Procedimento Experimental

5.1 – Construção dos Sensores

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 disso, essa estratégia promove 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 5.1 mostra o esquema simplificado de construção do sensor e o aspecto final do mesmo para utilização.

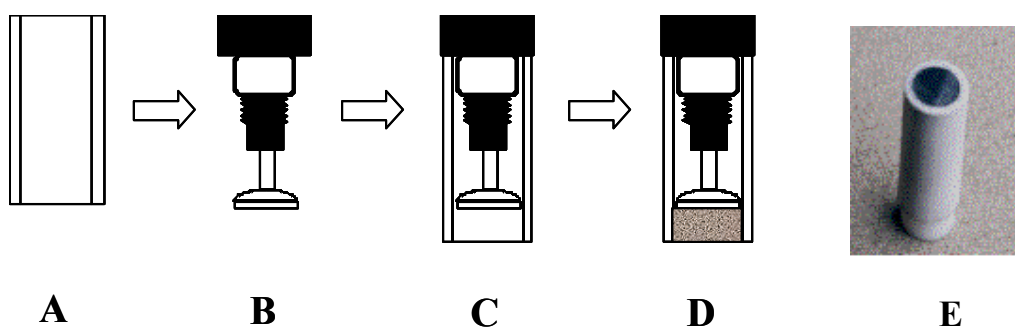


FIGURA 5.1 - Desenho esquemático da fabricação do sensor ISE de configuração convencional. (A) Tubo de PVC (6 mm de diâmetro interno, 18 mm de comprimento); (B) Conector fêmea de 2 mm soldado a uma peça circular de cobre; (C) Montagem final do sensor; (D) Detalhe da região onde o transdutor grafite-epóxi 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. À 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 5.2).



FIGURA 5.2 - 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.

5.2 – Preparação da Membrana Polimérica

A metodologia de preparação dos coquetéis sensores é bastante simples. Os componentes são pesados em um frasco de vidro e se adiciona tetrahidrofurano (THF) na proporção de 0,05 mL por cada grama de cloreto de polivinila (PVC) pesado. O THF dissolve e homogeneiza os diferentes componentes do coquetel sensor.

Na Tabela 5.1 estão descritas as formulações das membranas utilizadas no desenvolvimento do trabalho. Todos os reagentes foram adquiridos da Fluka, 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.

TABELA 5.1 - Formulação das membranas poliméricas (% em peso).

Analito – Composição da Membrana
P ($\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$)
1,00 % Ionóforo de fosfato (Triamina A)
65,00 % 2-Nitrodifenil éter (plastificante)
0,50 % brometo de tetraoctilamônio (aditivo)
34,50 % cloreto de polivinila (PVC) de alta massa molar
NITRATO
6,00 % Tridodecilmetilamônio nitrato (ionóforo)
65,00 % 2-Nitrofenil octil éter
29,00 % cloreto de polivinila (PVC) de alta massa molar
AMÔNIO
1,00 % Nonactina (ionóforo)
33,00 % cloreto de polivinila (PVC) de alta massa molar
66,00 % Dibutil sebacato (plastificante)

5.3 – Avaliação das Sondas Analíticas

Antes da avaliação das sondas diretamente no solo, era realizada uma avaliação das membranas 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 $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ 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 do perfil dos analitos após a variação dos mesmos no solo.

5.3.1 – Avaliação da Sonda de Fósforo

Após a introdução da sonda no solo, uma grande quantidade de água foi 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), foi injetada uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de K_2HPO_4 diretamente ao solo, sendo registradas as variações de potencial 48 h após a adição da solução e, conseqüentemente, variação do potencial, eram feitas coletas de solo a 5 e a 20 cm de profundidade utilizando uma sonda de coletas. Essas amostras eram levadas para o laboratório e congeladas para posterior análise pelos métodos padrão de determinação de fósforo. Em seguida, uma grande quantidade de água era adicionada para proporcionar o retorno do potencial à linha base inicial e novamente eram feitas coletas de solo nas profundidades já citadas.

5.3.1.1 - Comparação dos Resultados de Fósforo Obtidos com a Sonda Potenciométrica e os Métodos Padrão de Extração.

O solo estudado é um solo não fertilizado e que não estava sob nenhum tipo de utilização para cultivo. Foram realizadas análises da quantidade de fósforo presente no solo em paralelo com a evolução dos potenciais nos experimentos. Durante um período de três meses, variações na concentração de fósforo foram impostas utilizando uma solução de fosfato monobásico e amostras foram coletadas na altura correspondente dos sensores, sendo os teores de fósforo dessas amostras determinados pelos métodos padrão Mehlich-1, Mehlich-3 e resina de troca iônica e determinação pelo método azul de molibdênio.

5.3.2 - Avaliação das Sondas de Nitrato e Amônio

A avaliação dos sensores das quatro sondas de NO_3^- e NH_4^+ foi feita seguindo o mesmo procedimento citado no item 5.3. Após a introdução das sondas no solo, foi feita a adubação, utilizando NH_4NO_3 na forma sólida sobre a superfície do mesmo. Aproximadamente 5 g de NH_4NO_3 g foram adicionados nas áreas próximas às sondas N° 2 e N° 3. Essa quantidade de adubo foi escolhida porque foi feita uma relação entre a área em que as sondas estavam instaladas ($0,5 \text{ m}^2$) e a quantidade de adubo que normalmente é adicionada em 1 hectare. Na área relativa à sonda N° 4 foram adicionados 10 g, com intuito de forçar a percolação do NO_3^- de uma forma mais rápida até a profundidade em que se encontravam os sensores (20 cm). A sonda N° 1 foi usada como testemunha não havendo adição de adubo na área próxima a essa sonda. Antes da adição do nitrato de amônio, foram feitas coletas de solo a 20 cm de profundidade, seis dias após adição de nitrato de amônio foram feitas novas coletas na mesma profundidade e também na superfície do solo. As coletas foram feitas a 20 cm de profundidade do solo porque é nessa profundidade que estavam localizados os sensores. Em seguida, as amostras foram levadas ao laboratório e congeladas para posterior determinação de nitrato e amônio pelo método padrão de determinação de NO_3^- e NH_4^+ .

Esse experimento foi realizado por cinco meses. Nesse período nitrato de amônio foi adicionado três vezes e as coletas de solo continuaram sendo feitas a cada seis dias. O nitrato de amônio foi adicionado na forma sólida para simular as condições de adubação no campo.

Durante os primeiros dois meses após a adição do adubo por duas vezes, mesmo na sonda N° 4 em que foi adicionada uma quantidade em excesso de adubo, não foram verificados grandes variações nos valores de potencial em comparação aos valores registrados pelos sensores da sonda que foi usada como testemunha. A partir de então o adubo foi adicionado na forma de solução, mas na mesma proporção em que foi usado na forma sólida, para que fosse verificada a variação do potencial, já que na forma de solução a percolação dos nutrientes no solo seria mais rápida.

5.4 - Metodologias comparativas para determinação de fósforo no solo.

5.4.1 - Extração de fósforo pelo método Mehlich -1

Aproximadamente 5 g de amostras de solo foram pesados diretamente em béqueres, sendo a seguir adicionados 25 mL de solução extratora duplo-ácida ($\text{HCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1} + \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,0125 \text{ mol L}^{-1}$). A mistura foi agitada por 5 min em agitador horizontal circular e deixada decantando por uma noite (Silva, 1999). Retirou-se 5 mL do extrato e levou-se para determinação utilizando o método azul de molibdênio (AOAC, 1995).

5.4.2 – Extração de fósforo pelo método Mehlich -3

Aproximadamente 2,5 g de amostras de solo foram pesados diretamente em béqueres, adicionados 25 mL da solução extratora ($\text{CH}_3\text{COOH } 0,2 \text{ mol L}^{-1} + \text{NH}_4\text{NO}_3 \text{ } 0,25 \text{ mol L}^{-1} + \text{NH}_4\text{F } 0,015 \text{ mol L}^{-1} + \text{HNO}_3 \text{ } 0,013 \text{ mol L}^{-1} + \text{EDTA } 0,001 \text{ mol L}^{-1}$) (Silva, 1999). A mistura foi agitada por 5 min em agitador horizontal circular. Filtrou-se e levou-se os extratos para determinação utilizando o método azul de molibdênio (SILVA,1999).

5.4.3 - Extração de fósforo com resina trocadora de íons

Aproximadamente 2,5 g de amostras de solo foram pesados diretamente em frascos de plástico de 80 mL, adicionados 2,5 g de resina de troca iônica e 25 mL de água. A mistura foi agitada por 16 h em agitador horizontal circular. Após agitação, a mistura foi filtrada em peneira com malha de poliéster de 0,4 mm de abertura, utilizando um jato de água desionizada, para separar a resina do solo. Em seguida, a resina presente na malha de poliéster foi transferida para um recipiente de polietileno, sendo a malha e a resina lavadas com 50 mL da solução ($\text{NH}_4\text{Cl } 0,8 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{HCl } 0,2 \text{ mol L}^{-1}$)

para extrair o fósforo ligado à resina. Levou-se o extrato para determinação de fósforo pelo método azul de molibdênio (SILVA, 1999).

5.5 – Determinação P-PO₄³⁻ pelo método azul de molibdênio

Os teores de P-PO₄³⁻ extraídos pelos métodos de extração: Mehlich –1, Mehlich –3 e resina de troca iônica foram determinados utilizando o diagrama de fluxos descrito na Figura 5.3.

A amostra é aspirada para preencher a alça de amostragem (L = 80 cm, 400 µL), que define o volume exato a ser introduzido no sistema, sendo o excesso descartado (D). O volume selecionado é introduzido no fluxo transportador (solução extratora, selecionada de acordo com cada método de extração a 1,4 mL min⁻¹), recebe uma solução de molibdato de amônio diluída (R₁ a 1,7 mL min⁻¹) para formar o complexo (H₂MoO₄). O complexo (H₂MoO₄) recebe um agente redutor (ácido ascórbico 1% m/v) (R₂ a 1,7 mL min⁻¹) passa por uma bobina de reação B₁ (100 cm), para uma perfeita homogeneização dos reagentes, que está inserida em um banho termostático a 37°C utilizado para acelerar a reação de redução do Mo⁺⁶ em Mo³⁺, produzindo ácido fosfomolibdílico (H₃[P(Mo₃O₁₀)]x H₂O), de coloração azul, devida ao molibdênio, cuja intensidade da cor é proporcional à concentração de fosfato contida na amostra, é medida espectrofotometricamente, em comprimento de onda de 700 nm.

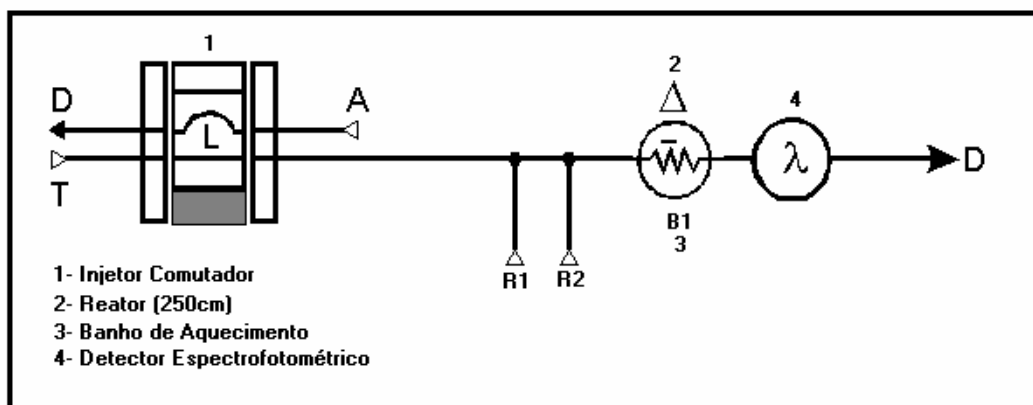


FIGURA 5.3 - Diagrama de fluxos para a determinação de $P-PO_4^{3-}$. A, amostra, T, fluxo transportador, B₁ bobina de reação, R₁, R₂ reagentes, λ, detector, Δ, banho termostatizado, D, descarte.

5.6 - Metodologia comparativa para determinação de NO_3^- e NH_4^+ no solo.

5.6.1 – Extração com KCl 1 mol L⁻¹

Aproximadamente 5 g de amostras de solo foram pesados diretamente em béqueres, sendo a seguir adicionados 25 mL de solução extratora de KCl 1 mol L⁻¹. A mistura foi agitada por 30 min em agitador horizontal circular filtrados e levados para determinação em sistema análise por injeção em fluxo (FIA) (LEMOS, 2002).

Foram preparadas curvas analíticas utilizando-se soluções padrões com concentrações variando de 0,5 a 40 mg L⁻¹ de NH_4NO_3 , a partir da solução 1000 mg L⁻¹ de NH_4NO_3 . A curva de calibração foi preparada seguindo o mesmo procedimento das amostras.

5.6.2 – Determinação de N-NH₄⁺

Os teores de N-NH₄⁺ extraídos foram determinados utilizando o diagrama de fluxos descrito na Figura 5.4.

A amostra obtida a partir da extração do solo com solução de KCl 1 mol L⁻¹ é aspirada para preencher a alça de amostragem (L = 100 cm, 500 μL), que define o volume exato a ser introduzido no sistema, sendo o excesso descartado (D). A porção selecionada é introduzida no fluxo transportador (R₁, NaOH 1,5 mol L⁻¹, CuSO₄ 0,1% e EDTA 2% a 4,0 mL min⁻¹), atravessa a bobina B₁ (30 cm) para uma perfeita homogeneização e conversão do NH₄⁺ em NH_{3(g)} pelo aumento do pH.

O fluxo contendo a 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 NH_{3(g)} é difundida e recebida em um outro fluxo contendo solução básica (Rec, NaOH 0,75 mol L⁻¹ a 1,7 mL min⁻¹) existente na parte superior da câmara, o gás NH_{3(g)} difundido recebe o reagente à base de ácido salicílico e nitroprussiato de sódio (R₂, 0,6 mL min⁻¹) e o hipoclorito comercial contendo 2,0 – 2,5 % de cloro ativo (R₃, 0,4 mL min⁻¹) e em seguida passa pela bobina de reação (B₂, 250 cm), para uma perfeita homogeneização dos reagentes, que está inserida em um banho termostático a 37°C utilizado para acelerar a reação. A amostra processada atinge a célula de fluxo do espectrofotômetro a 660 nm. Os teores de NH₄⁺ nas amostras são obtidos a partir da relação entre valor de absorbância x concentração.

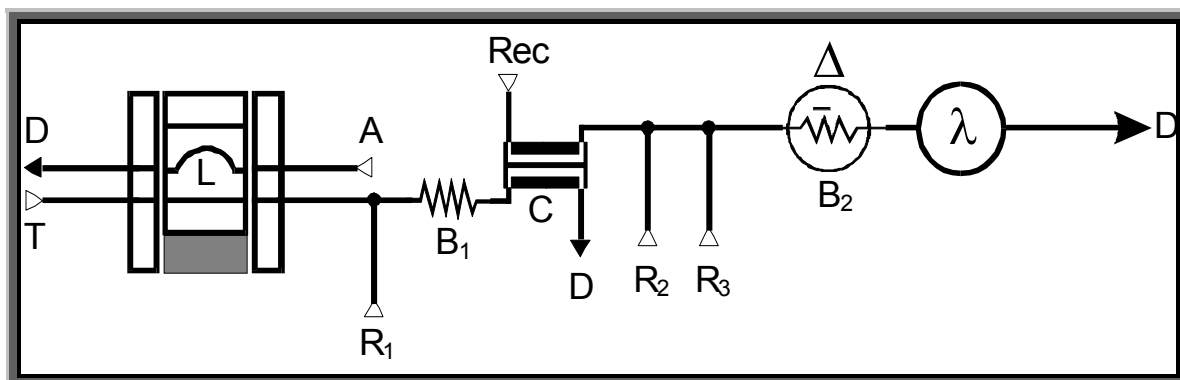
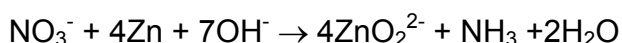


FIGURA 5.4 - Diagrama de fluxos para a determinação de N-NH₄⁺. A, amostra, T, fluxo transportador, B₁ e B₂, bobinas de reação, C, célula de difusão gasosa, Rec, fluxo receptor, R₁, R₂ e R₃, reagentes, λ, detector, Δ, banho termostatizado, D, descarte.

5.6.3 – Determinação de N-NO₃⁻

A determinação de nitrogênio total é realizada pela inserção de uma coluna contendo uma substância redutora, capaz de reduzir todo N-NO₃⁻ a NH_{3(g)}. Nesta etapa do trabalho foi empregada uma coluna de zinco metálico. Para a determinação de N-NO₃⁻ (na forma de N-NO₃⁻ + N-NH₄⁺) o valor de N-NO₃⁻ é obtido pela subtração do N-NH₄⁺ obtido da forma demonstrada no item anterior.

O diagrama de fluxos utilizado está descrito na Figura 5.5. A amostra, obtida a partir da 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, CuSO₄ 0,1% m/v e EDTA 2% m/v 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 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.

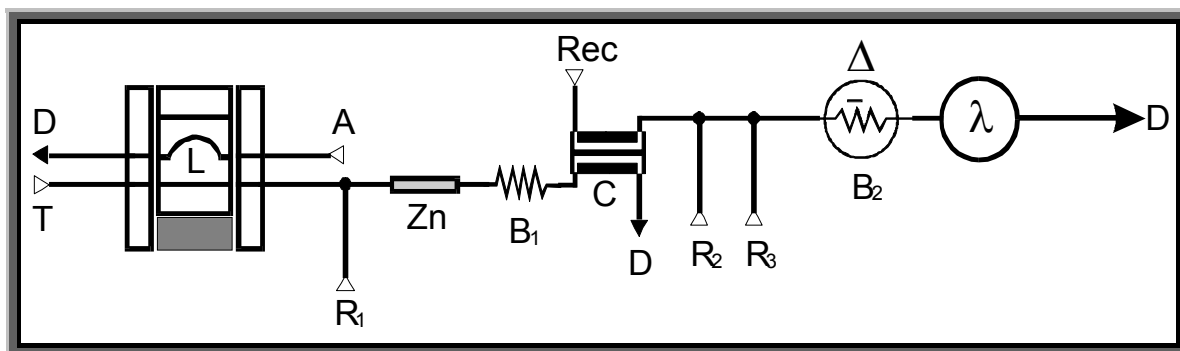


FIGURA 5.5 - Diagrama de fluxos para a determinação de N total, N-NO₃⁻. A, amostra, T, fluxo transportador, Zn, coluna redutora de zinco metálico, B₁ e B₂, bobinas de reação, C, célula de difusão gasosa, Rec, fluxo receptor, R₁, R₂, R₃, reagentes, λ, detector, Δ, banho termostatizado, D, descarte.

TABELA 5.2 - 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	N-NO ₃ ⁻	(N-NH ₄ ⁺ + N-NO ₃ ⁻) – N-NH ₄ ⁺
	(N-NH ₄ ⁺ + N-NO ₃ ⁻)	

5.7 – Determinação de N total em Material Vegetal

Pesou-se 0,5 g da planta coletada nas áreas próximas às sondas, seca e moída em tubo de digestão de 300 mL. Adicionou-se aproximadamente 1,5 g da mistura catalisadora e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado e levou-se ao bloco digestor. A digestão começa à temperatura inicial de 250 °C e manteve-se em aquecimento até quando a mistura ficou completamente clara, com coloração verde brilhante. Retirou-se a mistura do bloco digestor e deixou-se esfriar a temperatura ambiente.

A determinação de N (total) na planta foi feita pelo método Kjeldhal descrita no item 3.5.3.1.

O cálculo de N (total) foi feito seguindo a equação 4.1:

$$N(\%) = [(V_A - V_B) \times 0,1 \times 0,014 \times 100] / P_1 \quad \text{Eq. 4.1}$$

Em que N(%) = teor de nitrogênio total, em percentagem; V_A = volume da solução de ácido sulfúrico gasto na titulação da amostra, em mililitros; V_B = volume de solução de ácido sulfúrico gasto na titulação do branco, em mililitros; P_1 = massa da amostra (em gramas).

5.8 - Porcentagem de Umidade do Solo

A porcentagem de umidade do solo foi feita pesando 0,1 g de solo em uma recipiente de alumínio. Levou-se o recipiente com a amostra à estufa a temperatura de 105 °C por quatro horas. Decorrido esse tempo, transferiu-se os recipientes com as amostras secas para dessecador por aproximadamente duas horas ou até a estabilização da temperatura. A seguir, pesou-se as amostras diretamente no recipiente (NOGUEIRA & SOUZA, 2005).

A porcentagem de umidade foi calculada de acordo com a equação 4.2:

$$\% U = [(MI - ML) / (MF - ML) \times 100] \quad \text{Eq. 4.2}$$

%U= porcentagem de umidade

MF= massa do recipiente de alumínio + amostra seca

ML= massa do recipiente de alumínio

MI = massa do recipiente de alumínio + massa da amostra úmida

Capítulo 6

Resultados e Discussão

6- Resultados e discussão

6.1 - Métodos de extração de fósforo

O fósforo é encontrado no solo sob diversas formas, que varia de acordo com a natureza química dos compostos a que está ligado e à energia de ligação com esses compostos. Assim, a labilidade das formas de P no solo é variável e os métodos de rotina utilizados para a avaliação da disponibilidade para as plantas devem ser hábeis em desorver as formas que podem ser absorvidas pelas plantas. A maior parte dos extratores químicos retira P da fase sólida do solo, dissolvendo principalmente o P adsorvido ou existente próximo da superfície das partículas do solo. Em geral, o que determina a maior ou menor dissolução é a capacidade dos reagentes em dissolver determinadas formas de P do solo, sejam lábeis ou não. Assim, ácidos são mais eficazes na dissolução de fosfato de cálcio. A presença de ânions como o fluoreto, que atua como trocador de ligantes favorece a liberação do fósforo ligado ao Fe e ao Al (YAMADA & ABDALLA, 2004). Por outro lado resina de troca iônica usada para extração de fósforo do solo tem propriedades que permitem a avaliação apenas do fósforo lábil, ou seja, o fósforo prontamente disponível para as planta (YAMADA & ABDALLA, 2004). O objetivo do experimento foi avaliar o modo de ação dos extratores Mehlich-1, Mehlich-3 e resina de troca iônica sobre a extração das formas de fósforo prontamente disponível para as plantas. Na Tabela 6.1 estão apresentados os resultados dos teores de fósforo extraídos pelos três métodos de extração avaliados, Mehlich -1, Mehlich -3 e resina de troca iônica.

Os resultados apresentados na Tabela 6.1 mostram que os métodos que extraíram maiores concentrações de fósforo foram Mehlich-1 e resina de troca iônica. Entretanto, os resultados obtidos empregando-se o primeiro foram superiores aos resultados obtidos empregando-se o segundo método, que pode ser melhor visualizado na Figura 6.1. O extrator Mehlich-1 tem sua ação baseada na dissolução ácida, que possui a capacidade de dissolver o fósforo lábil e também resíduos de fosfatos naturais aplicados ao solo (YAMADA & ABDALLA, 2004) e nesse experimento foi adicionado solução de fósforo ao solo na forma de fosfato monobásico. Dessa forma, pode-se dizer

que, no processo de análise de solo, esta forma ainda não havia sido mineralizada, sendo prontamente dissolvida pelo extrator Mehlich-1, o que resultou em altos valores, proporcionando, resultados superestimados sobre os teores de fósforo presentes no solo avaliado.

TABELA 6.1 - Teores de fósforo obtidos empregando-se os três métodos de extração: Mehlich-1, Mehlich-3 e resina de troca iônica. Os resultados apresentam valores médios e os respectivos desvios padrão (n= 2)

Amostras	Mehlich-1	Mehlich-3 (mg P- PO ₄ ³⁻ dm ⁻³)	Resina
1	20,0 ± 0,1	0,1 ± 1,1	16,0 ± 2,8
2	8,1 ± 0,2	0,5 ± 0,4	3,0 ± 0,3
3	16,8 ± 0,4	0,4 ± 1,3	8,5 ± 0,7
4	13,0 ± 1,3	1,3 ± 0,8	9,5 ± 0,5
5	6,6 ± 0,5	0,5 ± 0,3	1,5 ± 0,8
6	8,6 ± 0,3	0,2 ± 0,5	4,5 ± 0,7

*Amostras 1, 3 e 5 são amostras de solo coletadas a 5 cm de profundidade.

*Amostras 2, 4 e 6 são amostras de solo coletadas a 20 cm de profundidade.

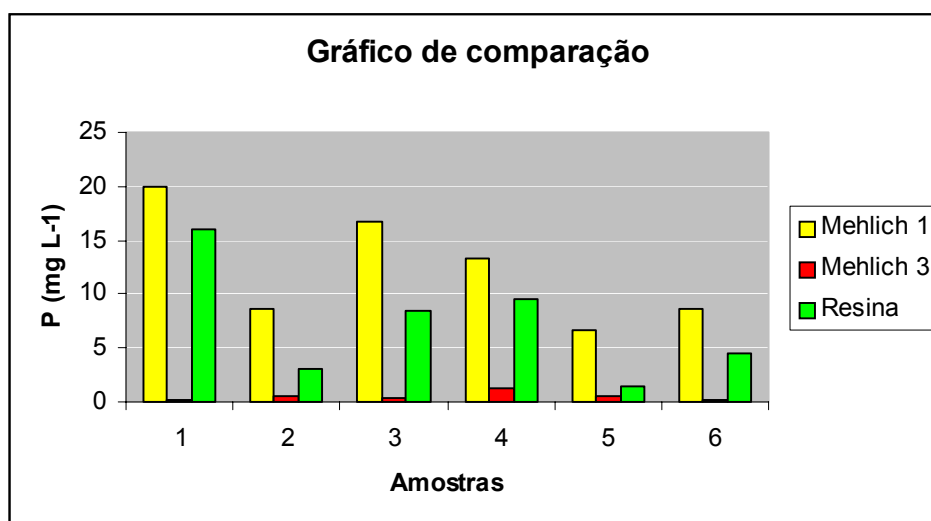


FIGURA -6.1- Comparação entre os três métodos de extração para fósforo

Para explicar a extração do fósforo com a resina de troca iônica deve ser considerada a seguinte representação de absorção de fósforo pelas raízes das plantas:

P-solo → P-solução → P-raiz

No método de extração por resina de troca iônica o P absorvido pelas raízes das plantas da representação acima é substituído pelo P retirado pela resina seguindo a seguinte representação:

P-solo → P-solução → P-resina

Portanto, há similaridade entre a absorção de fósforo pela raiz da planta e a adsorção do elemento pela resina trocadora de ânions (YAMADA & ABDALLA, 2004). Enquanto na primeira representação o dreno do P era a raiz, no processo de extração com resina, descrito pela segunda representação, o dreno é a resina. Como a solução extratora da resina é baseada apenas na capacidade de troca em meio aquoso a transferência de P do solo para resina se dá através da agitação dessa solução com o solo, já que nenhum reagente químico é utilizado.

Assim, o método de extração de P com resina de troca iônica, apesar de no presente estudo apresentar resultados inferiores de fósforo que os obtidos pelo extrator Mehlich -1, possui características peculiares que a maioria dos outros extratores não apresentam, pois o mesmo extrai do solo, como já mencionado, apenas o fósforo prontamente disponível para plantas o que lhe dá maior consistência teórica (YAMADA & ABDALLA, 2004).

O método de extração Mehlich -3 como pode ser observado através da Figura 6.1 foi o que extraiu menores teores de fósforo. VALLADARES e colaboradores 2001 estudaram a eficiência dos extratores Mehlich -1, KCl 1 mol L⁻¹ e Mehlich -3 com o objetivo de comparar os teores de macro e micronutrientes extraídos por essas soluções em amostras de solo do Rio de Janeiro e observaram por meio da análise dos coeficientes angulares da curva analítica que o extrator Mehlich-3 subestimou os teores de fósforo quando comparado aos dois outros métodos. Segundo YAMADA & ABDALLA (2004), esse extrator retira do solo o fósforo complexado ao alumínio. O que pode indicar que sua baixa eficiência nesse estudo talvez esteja relacionada à seletividade desse método para determinadas formas químicas de P no solo e não para o fósforo lábil, como é o caso da resina.

6.2 - Comparação dos resultados de fósforo obtidos com a sonda potenciométrica e os métodos padrão de extração.

Nesta etapa foi feito um estudo da variabilidade dos sensores da sonda potenciométrica, que estavam localizados a 5 e a 20 cm de profundidade no solo, com a adição de fosfato monobásico diretamente no solo, sendo os resultados comparados com os métodos padrão de extração Mehlich -1, Mehlich -3 e resina de troca iônica. Nas Figuras 6.2 e 6.3 está apresentado a evolução do potencial nos sensores a 20 cm.

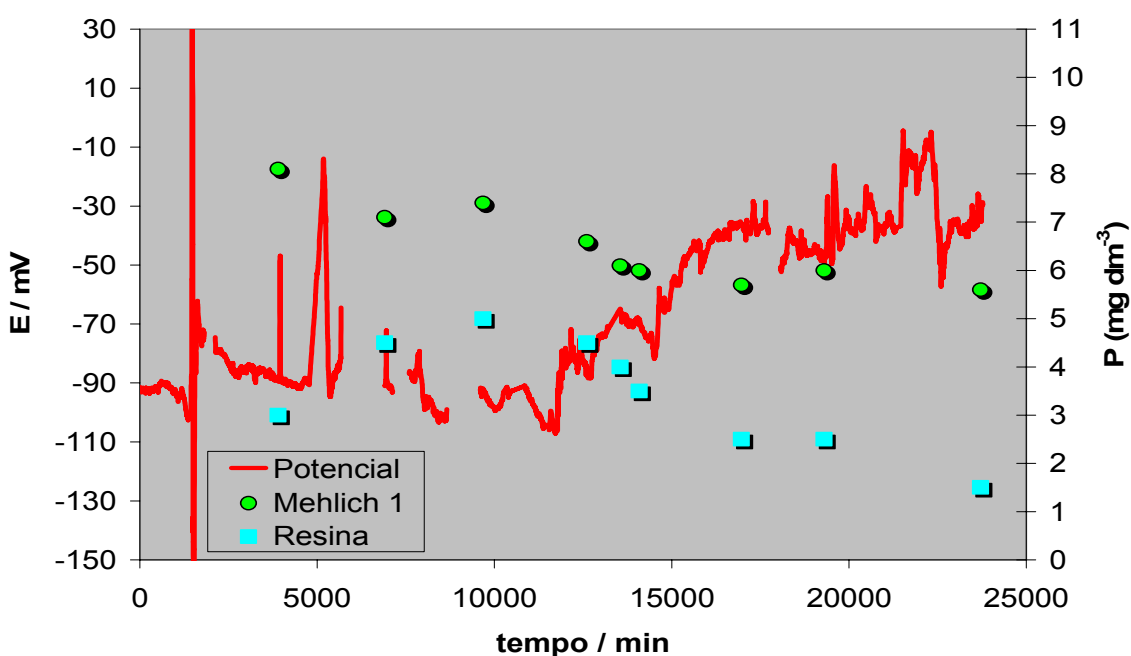


FIGURA 6.2 – Comparação da variação do potencial do sensor a 20 cm com os resultados obtidos através dos métodos Mehlich -1 e resina de troca iônica para extração de P (mg dm⁻³ de solo).

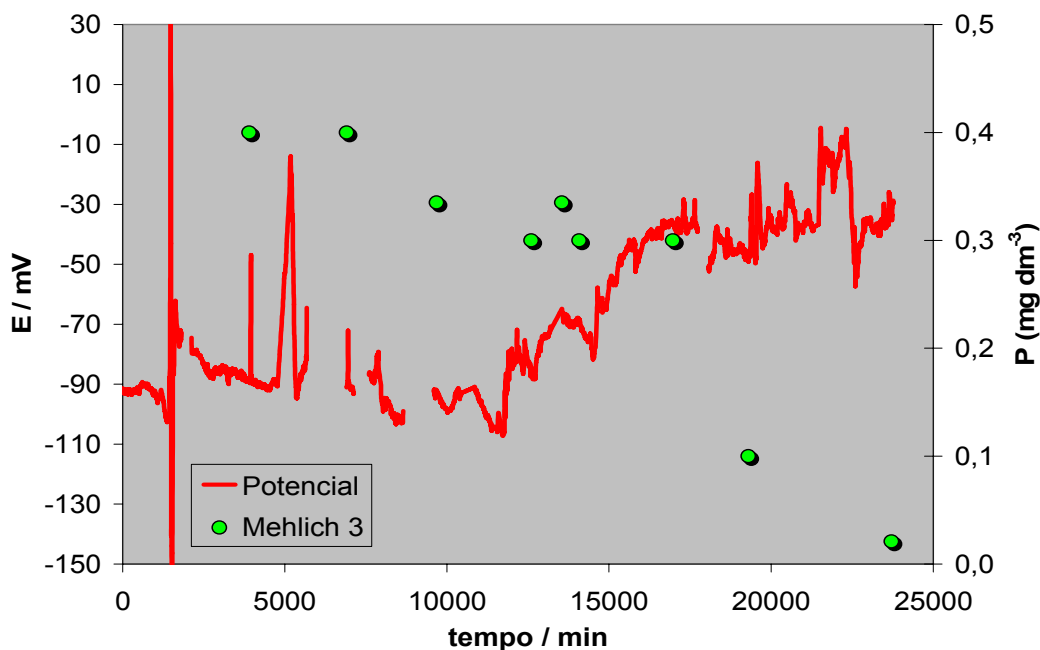


FIGURA 6.3 - Comparação da variação do potencial do sensor a 20 cm com os resultados obtidos através do método Mehlich -3 para extração de P (mg dm^{-3} de solo).

A partir dessas figuras foi possível observar que houve uma tendência similar entre os resultados obtidos com os dois sensores da sonda potenciométrica, localizados a 20 cm de profundidade no solo e os resultados provenientes dos métodos padrão de extração de fósforo. No momento em que os teores de fósforo, obtidos pelos métodos padrão aumentam, o potencial diminui e vice-versa, caracterizando a resposta potenciométrica do fosfato, visto que o fósforo é um ânion e possui relação inversa ao potencial dos sensores. Assim, é possível dizer que a sonda potenciométrica consegue monitorar a variabilidade do fósforo a 20 cm de profundidade no solo.

Nos dois sensores localizados a 5 cm de profundidade no solo não foi possível observar similaridade entre os teores obtidos pelos métodos padrão de extração de fósforo e os potenciais dos sensores como mostrado nas Figuras 6.4, 6.5 e 6.6.

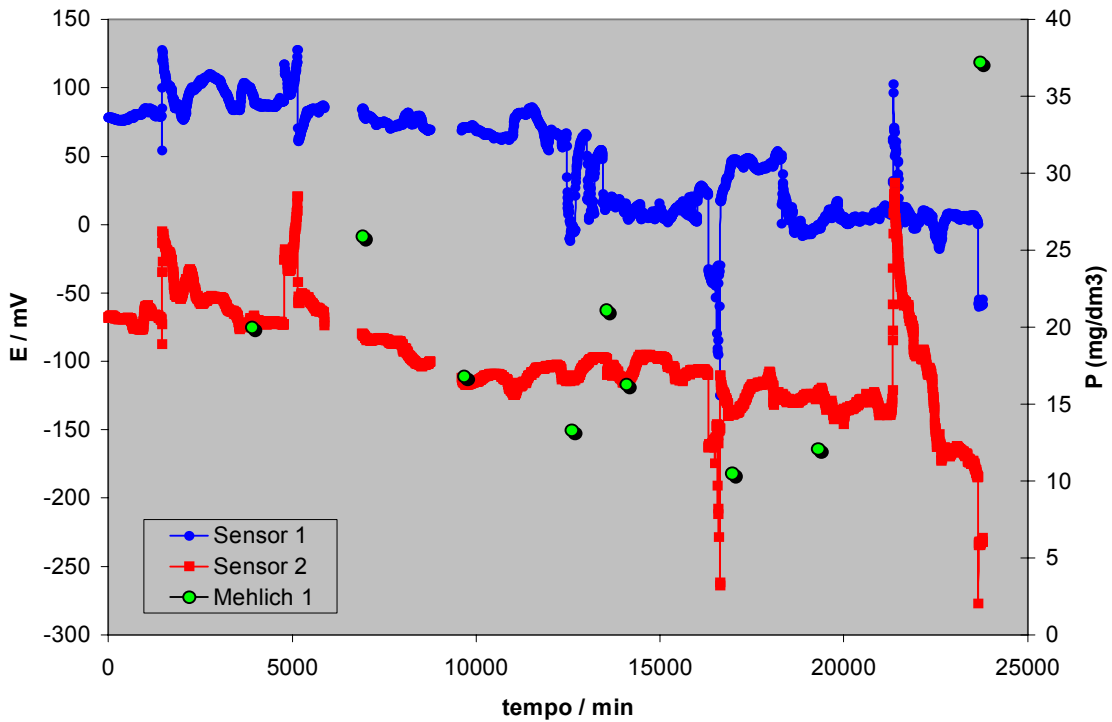


FIGURA 6.4 - Comparação da variação do potencial do sensor a 5 cm com os resultados obtidos através do método Mehlich -1 para extração de P (mg dm^{-3} de solo).

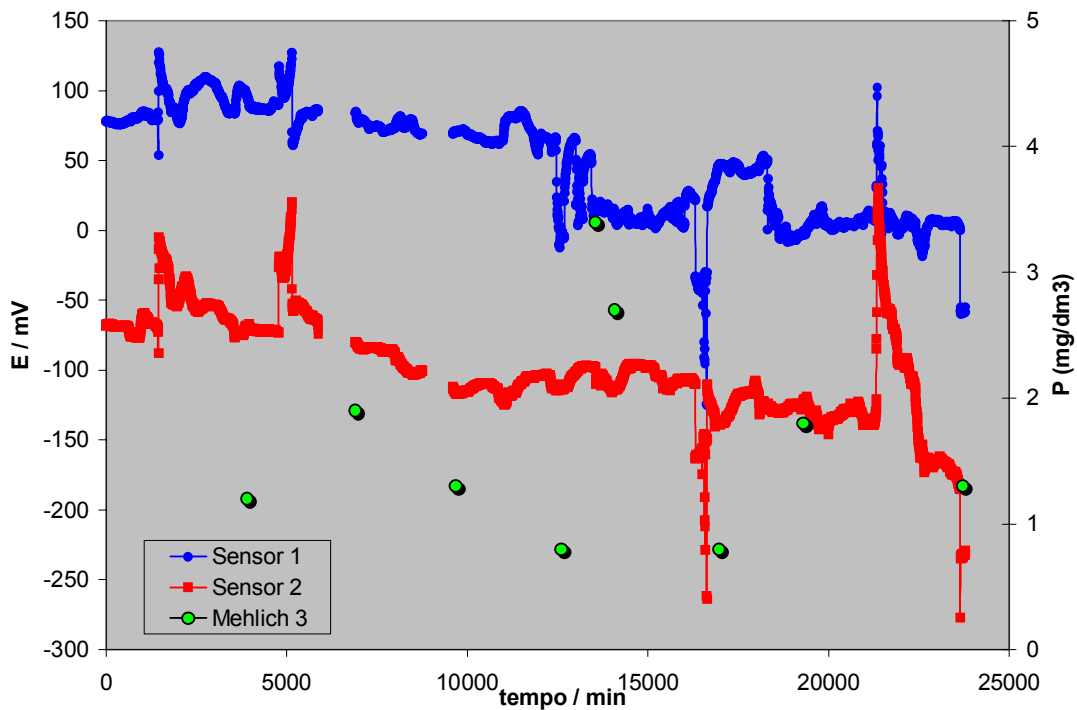


FIGURA 6.5 - Comparação da variação do potencial do sensor a 5 cm com os resultados obtidos através do método Mehlich -3 para extração de P (mg dm^{-3} de solo).

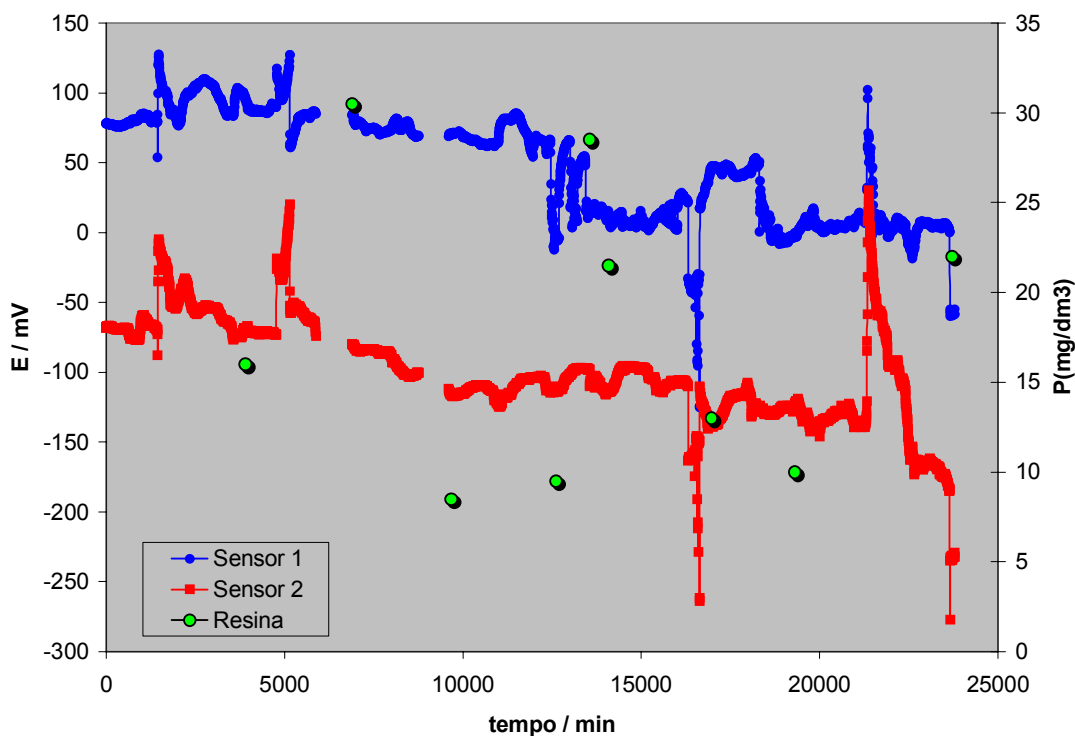


FIGURA 6.6 - Comparação da variação do potencial do sensor localizados 5 cm de profundidade com os resultados obtidos através do método resina de troca iônica para extração de P (mg dm^{-3} de solo).

A camada superficial do solo é submetida a maiores ou menores variações, de acordo com a temperatura do ar, portanto sofre maiores flutuações do que o subsolo. De acordo com BARBER (1995) o fator controlador da liberação de P é a taxa de decomposição da matéria orgânica e dos resíduos culturais, que é variável entre estações do ano, pois é muito afetada por temperatura e umidade do solo. O fato de a 5 cm não se ter conseguido uma boa relação entre o potencial dos sensores e os métodos padrão de extração de fósforo, foi devido à irreprodutibilidade na amostragem na superfície. Visto que, a disponibilidade de fósforo nessa região do solo é dependente da temperatura.

Frente a esses problemas relacionados à disponibilidade de fósforo nessa região onde os sensores a 5 cm estavam situados optou-se por trabalhar apenas com sensores situados a 20 cm de profundidade.

6.3 – Efeitos de algumas variáveis sobre a resposta dos sensores seletivos a fósforo

Esse estudo foi feito com intuito de avaliar a influência de parâmetros tais como: concentração de fósforo, temperatura e umidade do solo sobre a resposta dos sensores da sonda potenciométrica. Para tanto, 16 coletas foram realizadas seguindo-se um planejamento fatorial 2^3 com 8 experimentos em replicata. A Tabela 6.5 mostra os experimentos realizados e os níveis superior e inferior de cada variável estudada. Como resposta monitorada foi utilizado o potencial fornecido pelos sensores a 20 cm de profundidade. A partir dos experimentos pôde-se observar como cada variável influencia na resposta dos sensores a partir dos valores dos efeitos calculados para cada parâmetro.

TABELA 6.2 - Matriz de planejamento para avaliação das variáveis concentração de fósforo, umidade e temperatura do solo sobre a resposta dos sensores a 20 cm de profundidade.

Experimento	Conc. P	Umidade	Temperatura	Potencial médio
1	3	10	22	168
2	25	3	35	-16
3	3	3	35	-4
4	25	3	22	14
5	3	3	22	70
6	3	10	35	143
7	25	10	35	-58
8	25	10	22	84

A Figura 6.7 mostra o gráfico de Pareto para avaliação dos efeitos calculados de cada variável sobre a resposta potencial. O gráfico de Pareto mostra cada um dos efeitos estimados em uma ordem decrescente de magnitude. O comprimento de cada barra é proporcional ao efeito padronizado, o qual é o efeito estimado dividido pelo desvio padrão. Isto é equivalente a um teste t para cada efeito. A

linha vertical mais grossa representa o valor de t tabelado para o nível de confiança escolhido e serve para julgamento dos efeitos que sejam estatisticamente significativos. Nesse caso foi escolhido um nível de confiança de 99%. Assim, qualquer barra cujo comprimento se estenda além da linha corresponde a efeitos que são estatisticamente significativos em um nível de confiança de 99%.

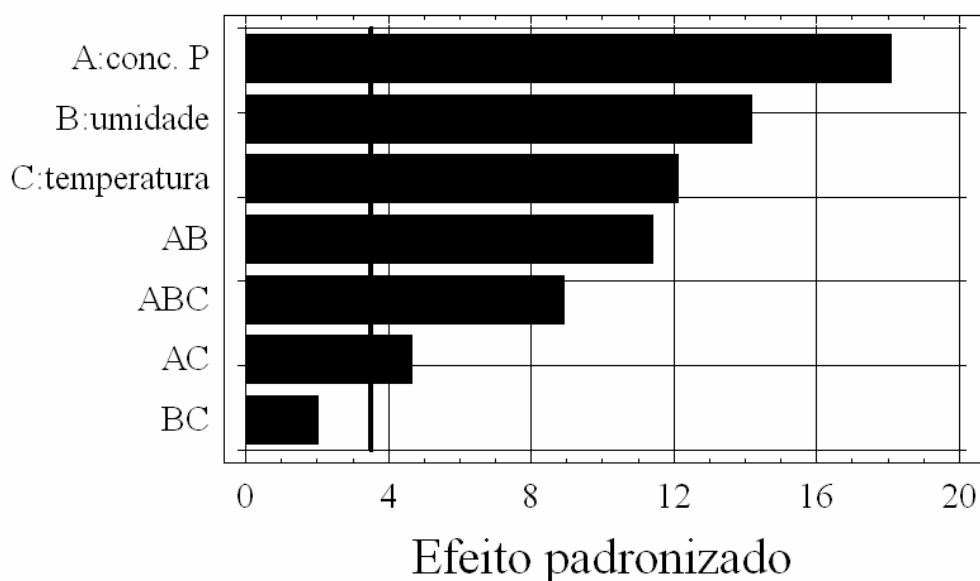


FIGURA 6.7 - Gráfico de Pareto mostrando a significância da influência das variáveis concentração de fósforo (A), umidade (B) e temperatura (C) do solo sobre a resposta dos sensores a 20 cm de profundidade.

Portanto pode-se observar que existem seis efeitos que são significativos nesse nível de confiança, ou seja, seis efeitos cuja variação possui influência real sobre a variação da resposta dos sensores potenciométricos seletivos a fósforo quando empregados a 20 cm de profundidade no solo. A concentração de fósforo é a variável que mostrou maior influência, o que é de se esperar, uma vez que o sensor é seletivo a fósforo. O potencial também é fortemente influenciado pela umidade e temperatura do solo. Além da influência das variáveis em separado, existe influência também das interações de duas ou mais variáveis entre si. Nesse caso, as interações de duas variáveis tais como entre a concentração de fósforo e umidade (efeito AB) e

concentração de fósforo e temperatura (efeito AC) são significativas. Também o efeito relativo à interação das três variáveis é significativo na variação da reposta. Entretanto, a interação entre umidade e temperatura do solo não se mostrou importante para a variação da reposta, o que nos leva a concluir que a variável que possui maior contribuição para que as interações de duas e três variáveis se tornem significativa é a concentração de fósforo.

Contudo, as conclusões mais importantes resultantes desse experimento nos mostram que a resposta dos sensores também é influenciada fortemente pelas variáveis umidade e temperatura do solo. A Figura 6.8 mostra de que forma essas variáveis influenciam na variação do potencial dos sensores. O gráfico pode ser interpretado da seguinte forma: mantendo-se a umidade e a temperatura constantes no ponto médio de cada faixa de trabalho associada às variáveis no planejamento experimental (isto é, mantendo-se a umidade em 6,5% e a temperatura em 28,5°C), pode-se observar que a concentração influencia de forma negativa sobre o potencial dos sensores. Ou seja, quando a concentração aumenta o potencial diminui, característica dos sensores potenciométricos seletivos a ânions, o que era de se esperar visto que o fósforo está sendo medido na forma de PO_4^{3-} e possui relação inversa com o potencial do sensor.

Da mesma forma, mantendo-se agora a concentração de fósforo e a temperatura nos seus respectivos pontos médios (14 mg dm^{-3} e 28,5°C, respectivamente), pode-se observar que a umidade teve influência contrária ao que ocorreu com a concentração sobre o potencial do sensor. Ou seja, um aumento da umidade para uma mesma concentração de fósforo e temperatura do solo proporciona um aumento do potencial do sensor. Por fim, mantendo-se a concentração e a temperatura fixas foi possível observar que o aumento da temperatura em caso de concentração de fósforo e umidade constantes causa uma diminuição do potencial do sensor seletivo a fósforo.

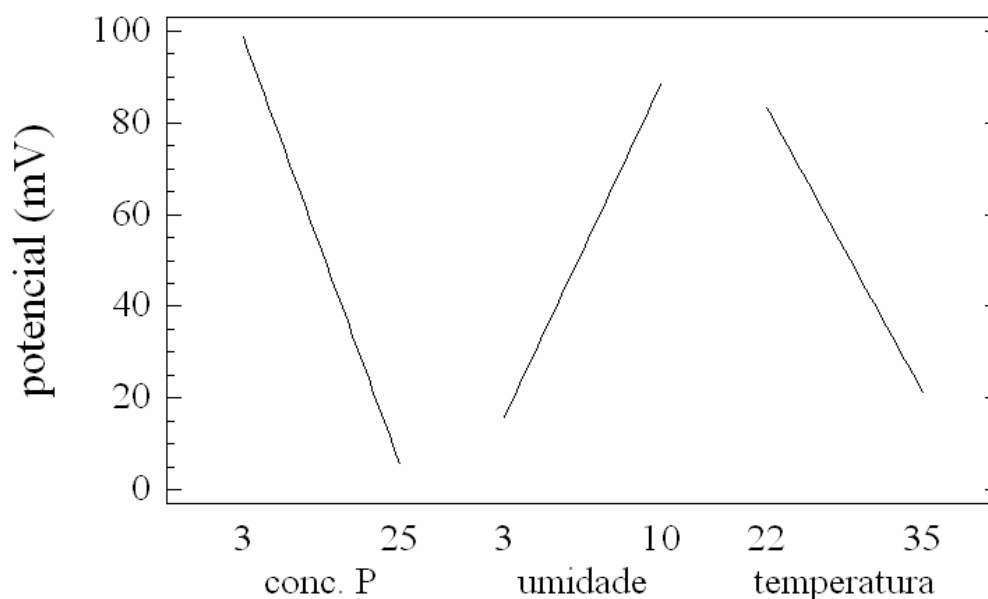


FIGURA 6.8 - Efeitos das variáveis concentração, umidade e temperatura sobre a resposta dos sensores da sonda potenciométrica.

Um estudo feito sobre a influência da umidade na resposta de um sensor potenciométrico seletivo a Ca^{2+} por LEMOS (2005) mostrou que para baixos valores de umidade o sensor apresenta uma resposta mais sensível à variação da concentração de cálcio em comparação ao comportamento que apresenta quando os valores de umidade são maiores. O autor fala ainda que esta diferenciação pode ser explicada devido ao fato de que o sistema sensor mede a atividade de cálcio na solução do solo.

considerando essa observação da mesma forma pode ser explicado o resultado mostrado na Figura - 6.8, ou seja, quando a umidade, aumenta ocorre uma diluição dos nutrientes na região do sensor, diminuindo assim sua concentração nessa região e conseqüentemente aumentando o potencial no caso do fósforo, que possui uma relação inversa ao potencial do sensor. A temperatura, tal como a umidade e a concentração influencia na resposta dos sensores potenciométricos. Oscilações na temperatura, assim como variações na condutividade (entre o eletrodo de referência e o eletrodo de trabalho) e efeitos menores como a perda dos componentes da membrana ou variações de pressão são as principais causas das variações nas medidas potenciométricas (ARTIGAS, 2003). No entanto, se a condutividade do meio é suficiente para manter um bom contato entre os eletrodos, as variações de potencial

devido a estes efeitos podem ser desconsideradas. Para evitar a influência da temperatura em medidas potenciométricas, normalmente se trabalha sob condições isotérmicas. No presente caso, é impossível conseguir condições isotérmicas no solo, pois nesse meio a temperatura varia ao longo do dia e depende de fatores climáticos.

Utilizando a mesma sonda potenciométrica por LEMOS (2005) em laboratório, verificou-se que para cátions o potencial diminui quando a temperatura aumenta, diferentemente do que acontece para ânions, com o aumento do potencial. Ambos os resultados simulam uma diminuição da concentração dos nutrientes proporcional à temperatura. Foi observado ainda, que para íons monovalentes houve uma variação em torno de 20 mV, enquanto que para fosfato houve uma variação de 40 mV, o que dá uma sensibilidade de 0,8696 e 1,7391 mV °C. Entretanto, os resultados obtidos pela sonda potenciométrica no campo revelaram que as variações da temperatura além de serem muito maiores, apresentaram comportamento inverso para ânions, com a diminuição do potencial. 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 composição em solução aquosa é dependente da temperatura.

O comportamento do fósforo apresenta relação direta com o aumento da temperatura, estando diretamente ligado à atuação da massa microbiana do solo e a mineralização da matéria orgânica. MENEZES e colaboradores (2002) encontraram maiores concentrações médias de P em solos do nordeste brasileiro com pouca cobertura vegetal, ou seja, que apresentaram maiores valores médios da temperatura do solo. Outro exemplo é o trabalho realizado por OEHL et al. (2001) no qual foi efetuado estudo de isótopos de P sob as condições de respiração de solo, sendo observado que as condições de P microbiano e P inorgânico na solução do solo eram aproximadamente constantes, sugerindo uma troca microbiana do P.

Os resultados observados no experimento com a sonda potenciométrica sobre o comportamento do fósforo na solução do solo pode ser devido à atuação da temperatura sobre o sistema sensores-sonda potenciométrica, ou ainda da temperatura sobre a química do solo e sua solução aquosa, a qual se mostrou predominante diante das grandes variações de potencial frente, às vezes, às pequenas variações de

temperatura, as quais não poderiam ser explicadas somente através da influência da temperatura (LEMOS, 2005).

Apesar de a temperatura possuir influência significativa sobre o potencial do sensor potenciométrico, tendo em vista que o potencial é uma variável dependente da temperatura segundo a equação de Nernst. No presente estudo, não é possível afirmar que só a temperatura influenciou na variação do potencial do sensor, pois a disponibilidade da concentração de fósforo no solo é dependente de fatores como atividade microbiana que por sua vez também é influenciada pela temperatura.

6.4 - Estudo de correlação entre o potencial da sonda e os métodos de extração de fósforo

O método de regressão linear múltipla é um dos procedimentos mais utilizados, pois proporciona uma relação funcional simples (linear) entre variáveis. A relação matemática é expressa pela seguinte equação.

$$Y = a + b_1 * X_1 + b_2 * X_2 + \dots b_n * X_n$$

Em que b_1, b_2, \dots, b_n são os coeficientes de regressão, ajustados a partir dos dados experimentais; Y a variável dependente e $X_1, X_2 \dots X_n$ são as variáveis independentes (LOURENÇO & LANDIM, 2006).

Esse método foi aplicado para verificar se o potencial da sonda potenciométrica pode ser previsto em função das variáveis: concentração de fósforo obtidas pelos métodos padrão de extração Mehlich-1, Mehlich-3 e resina de troca iônica, umidade e temperatura e, também, qual a sua ordem de importância nessa previsão.

Foi então realizada uma análise de regressão levando em consideração todas as variáveis consideradas independentes e uma análise da variância para verificar a validade do modelo aplicado.

A proporção da variância do Y observado, explicada por uma equação de regressão ajustada é representada pelo coeficiente de determinação R^2 . Os valores de R^2 irão dispor-se no intervalo 0-1, fornecendo uma medida relativa à quantidade do

ajuste do modelo de regressão múltipla dos dados. Se o valor de R^2 for próximo de 1 isso significa que as diversas variáveis X medidas são responsáveis quase que totalmente pela variabilidade de Y, caso contrário se R^2 apresentar um valor próximo à zero (LOURENÇO & LANDIM, 2006). Os resultados serão apresentados nas Tabelas 6.2, 6.3 e 6.4.

TABELA 6.3 - Correlação entre os potenciais dos sensores da sonda potenciométrica a 20 cm e o método de extração por resina de troca iônica.

Amostra	Valor experimental (mg P dm ⁻³)	Valor ajustado (mg dm ⁻³)	Resíduo
1	8,5	8,6	0,1
2	10,0	10,2	0,2
3	4,5	4,8	0,3
4	5,0	5,3	0,3
5	2,5	2,2	-0,3

TABELA 6.4 - Correlação entre os potenciais dos sensores da sonda potenciométrica a 20 cm e o método de extração Mehlich -1.

Amostra	Valor experimental (mg P dm ⁻³)	Valor ajustado (mg P dm ⁻³)	Resíduo
1	1,20	1,13	-0,069
2	1,30	1,23	-0,061
3	0,40	0,33	-0,068
4	0,34	0,60	0,265
5	0,60	0,61	0,010

TABELA 6.5 - Correlação entre os potenciais dos sensores da sonda potenciométrica a 20 cm e o método de extração Mehlich -3.

Amostra	Valor experimental (mg P dm ⁻³)	Valor ajustado (mg P dm ⁻³)	Resíduo
1	16,30	16,36	0,060
2	8,10	8,35	0,249
3	7,10	7,42	0,320
4	6,60	7,15	0,554
5	6,00	6,56	0,557

Os coeficientes de correlação obtidos foram 0,9790, 0,9347 e 0,9303, respectivamente, para resina de troca iônica, Mehlich-1 e Mehlich-3. Esses resultados mostram que os resultados obtidos pelo método da resina de troca iônica indica 97,90% da variabilidade do potencial. A partir dos coeficientes de correlação foi possível observar que a melhor correlação com o potencial dos sensores, instalados a 20 cm de profundidade, foi obtido com o método da resina de troca iônica. Esse método possibilita a determinação do fósforo que está diretamente disponível para as plantas. Nesse contexto, existe uma boa similaridade entre os resultados de fósforo obtidos pelo método de extração pela resina de troca iônica e o potencial dos sensores da sonda potenciométrica. Isso indica a viabilidade e confiabilidade da sonda potenciométrica como ferramenta para aplicação na agricultura, auxiliando na determinação de fósforo, visto que esse nutriente é de grande importância para o crescimento e desenvolvimento das culturas. Além disso, sabendo-se a disponibilidade de fósforo presente no solo em tempo real é possível controlar a quantidade de fertilizantes adicionados na forma de fosfato a esse solo. Dessa maneira, é possível evitar problemas como a morte das culturas causadas por excesso ou falta desse nutriente, diminuir os custos com adubação e evitar perdas de fósforo por lixiviação aos corpos aquáticos, o que provoca sérios problemas ambientais devido à eutrofização.

6.5 – Determinação de Nitrato e Amônio no Solo

Na análise de solos, o nitrogênio é um dos elementos essenciais para o crescimento das plantas e representa um dos nutrientes comumente aplicados ao solo como fertilizante. Em função disso, a determinação de nitrogênio é de interesse em diferentes etapas da pesquisa agropecuária e em laboratórios industrial ou de controle de qualidade, sendo freqüente a necessidade de grande número de análise. Diferentes métodos foram desenvolvidos para determinação direta do nitrogênio em digeridos de plantas e extratos de solo (LEMOS et al., 2002).

Um procedimento específico, robusto e sensível para a determinação da concentração de nitrogênio em fluidos biológicos, águas naturais e domésticas e extratos de solo baseia-se na formação de 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. Mas, esse método apresenta alguns inconvenientes, pois o mecanismo da 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), além da utilização de reagentes tóxicos.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar quatro sondas analíticas que foram utilizadas para determinação de amônio e nitrato diretamente no solo, com intuito de eliminar o processo de pré-tratamento da amostra, facilitando assim a análise desses nutrientes no solo.

Em cada sonda existiam quatro sensores, sendo que dois deles foram utilizados para detecção de amônio e dois para detecção de nitrato. Os sensores destas sondas estavam todos localizados a 20 cm de profundidade no solo, pois em estudos anteriores utilizando a sonda potenciométrica para determinação de fósforo nessa altura os sensores sofreram menos influência de variáveis como temperatura e umidade.

6.5.1 - Comparação dos resultados de nitrato e amônio obtidos com as sondas potenciométricas e o método padrão de determinação.

Esse estudo foi realizado com o intuito de avaliar se existia similaridade entre a concentração de nitrato e amônio no solo obtidos pelo método padrão de determinação e os potenciais da sonda analítica.

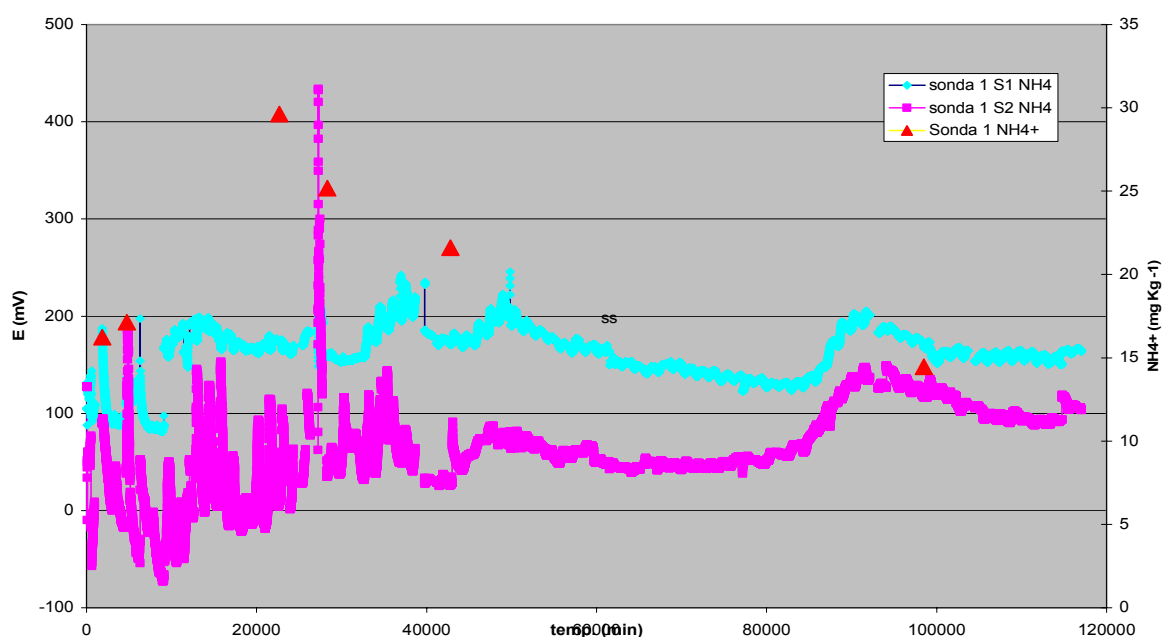


FIGURA 6.9 – Comparação entre os potenciais da sonda 1 e os resultados de NH_4^+ obtidos pelo método padrão de determinação (reação de Berthelot).

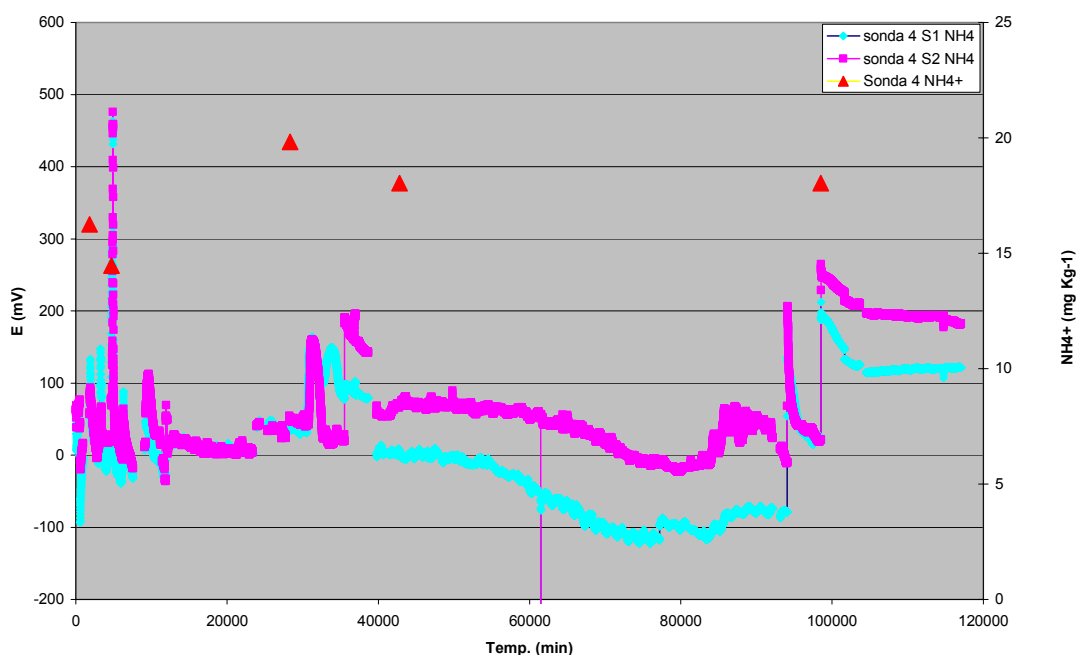


FIGURA 6.10 – Comparação entre os potenciais da sonda 4 e os resultados de NH_4^+ obtidos pelo método pelo método padrão de determinação (reação de Berthelot).

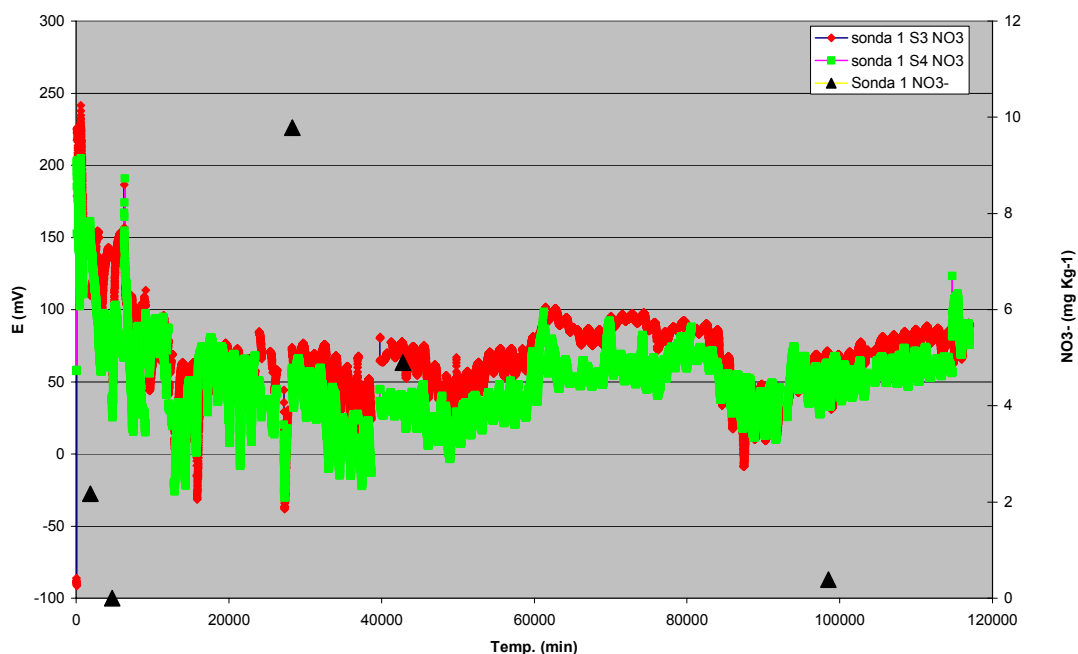


FIGURA 6.11 – Comparação entre os potenciais da sonda 1 e os resultados de NO_3^- obtidos pelo método pelo método padrão de determinação (reação de Berthelot).

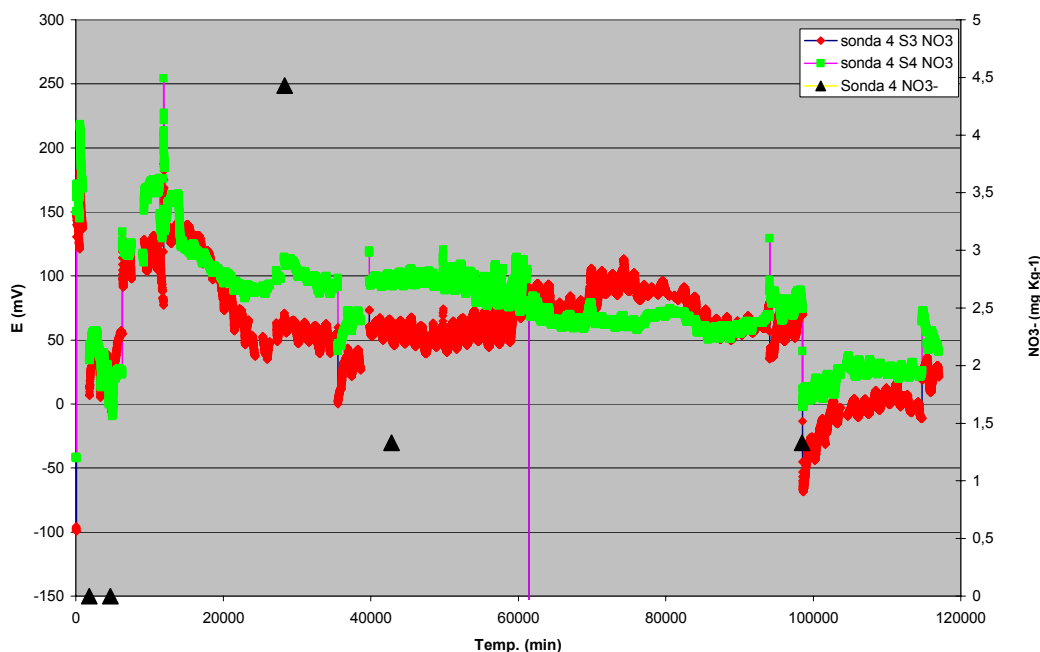


FIGURA 6.12-Comparação entre os potenciais da sonda 4 e os resultados de NO_3^- obtidos pelo método pelo método padrão de determinação (reação de Berthelot).

Comparações entre os resultados provenientes do método padrão e os resultados dos sensores mostraram tendência similares, como observado nas Figuras 6.9, 6.10, 6.11 e 6.12. Pode ser observado a partir dos gráficos 6.9 e 6.10, que tanto na sonda 1, a qual foi usada como testemunha, quanto na sonda 4 na qual foi adicionado um excesso de fertilizante, não houve percolação de amônio no solo, visto que o comportamento do potencial do sensor e as concentrações de amônio obtidas pelo método padrão nas amostras coletadas na região da sonda 4 foram similares aos obtidos na sonda 1 que foi usada como testemunha.

Vale ressaltar que o solo estudado possui vegetação, podendo-se inferir que o amônio adicionado na forma de fertilizante pode ter sofrido processo de nitrificação, pois sob condições que favorecem o crescimento das plantas, grande parte do nitrogênio amoniacal do solo é convertido em nitrogênio nítrico por certas bactérias nitrificadoras presentes no solo (LOPES, 1989) talvez por isso o mesmo não conseguiu percolar no perfil do solo e chegar a 20 cm onde os sensores estavam localizados, sendo que essa a profundidade nas quais as coletas foram realizadas.

Em vista disso, não houve grandes variações de potencial mesmo na sonda 4, em que foi adicionado excesso de fertilizante. Mesmo assim, os sensores conseguiram detectar a variação do amônio presente no solo, pois houve uma boa similaridade entre o potencial dos sensores e os teores de amônio obtidos pelo método padrão. O que pode ser confirmado pelo aumento do potencial com o aumento da concentração de amônio o que era de se esperar visto que o íon amônio é um cátion e possui relação direta com o potencial.

Nas Figuras 6.11 e 6.12 é apresentado, respectivamente, a evolução do potencial nas sondas 1 e 4, para nitrato. Os teores de nitrato presentes no solo foram determinados em paralelo à evolução do potencial no experimento utilizando método comparativo de análise desse nutriente (SILVA, 1999). O comportamento da evolução de nitrato no tipo de solo estudado para as sondas 1 e 4 mostrou a mesma tendência. Mesmo na sonda 4 junto a qual foi adicionado excesso de fertilizante nitrogenado o comportamento do sensor foi o mesmo. Isso talvez seja explicado pelo fato de o nitrato, apesar de ser um íon de fácil lixiviação, ficar retido nas camadas superiores do solo ou perdido por desnitrificação, um processo pelo qual o nitrato é reduzido a óxido nitroso ou N elementar, sendo perdido para a atmosfera na forma de um gás. Vale ressaltar mais uma vez, que todas as coletas foram feitas a 20 cm de profundidade, sendo essa a região em que os sensores se encontravam.

É de se estranhar que em um sensor sensível a nitrato ou a amônio, a variação da concentração de nitrogênio não seja por si própria significativa na resposta desses sensores. Entretanto, não pode ser esquecido que tratou-se de uma matriz descontínua como o solo onde a mobilidade dos íons em seu interior é extremamente dependente do teor de umidade volumétrica disponível.

LEMOS (2005) verificou que a quantidade de umidade presente no solo influencia nos processos de transporte dos analitos em direção ao sensor, sendo essa influencia negativa em casos de umidade muito baixa, ou seja, com umidade gravimétrica de 6% o sensor não é capaz de detectar o analito de interesse, apresentando sinal transiente com bastante ruídos e sem estabilização. Por outro lado, com valores de umidade acima de 30% a resposta do sensor se assemelha à resposta em condições de solução aquosa, ou seja, como se o solo não estivesse presente.

No período em que o experimento foi realizado, de março a junho, foi um período de estiagem. Assim, foram realizados testes de umidade com as amostras de solo para que pudessemos verificar a umidade relativa do mesmo, podendo-se observar através do Figura 6.13 que a umidade do solo variou entre 6,0 e 9,0%, sendo a mesma baixa. Como a detecção nesse tipo de sensor é relativamente dependente do contato do analito de interesse com a superfície do mesmo, esse contato é prejudicado, como já citado antes, pela baixa umidade do solo. Essa talvez seja a razão de não ter sido observado grandes variações no potencial na sonda 4, junto a qual foi adicionado quantidade em excesso de fertilizante, nem nos sensores para nitrato nem nos sensores de amônio. Isso se deve talvez a ação dos microrganismos presentes no solo que por sua vez podem ter aproveitado esses nutrientes ou devido à baixa umidade do solo que não permitiu que esses nutrientes se movimentassem para região em que os sensores estavam localizados, ou seja, a 20 cm de profundidade.

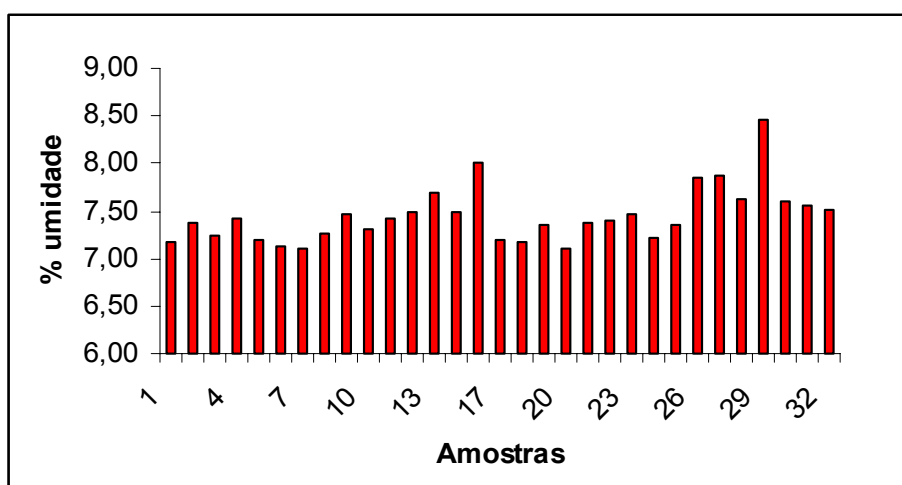


FIGURA 6.13 – Porcentagem de umidade gravimétrica das 32 amostras de solos coletadas nas regiões das sondas 1, 2, 3 e 4.

A partir desses resultados, decidiu-se coletar e analisar amostras das plantas presentes nesse solo, utilizando o método Kjeldahl, para a determinação do N total. Assim, poderia ser verificado se as mesmas teriam absorvido esses nutrientes, que foi aplicado ao solo na forma de NH_4NO_3 , visto que esse tipo de fertilizante é mais facilmente absorvido pelas plantas. Os resultados estão mostrados na Tabela 6.6.

TABELA 6.6 – Determinação da porcentagem de N total nas plantas coletadas nas regiões das sondas 1, 2, 3 e 4. Os resultados apresentam valores médios e os respectivos desvios padrão (n=2).

Sonda	%N
1	2,80 ± 0,03
2	2,87 ± 0,08
3	2,47 ± 0,03
4	2,65 ± 0,01

As coletas das plantas foram feitas um mês depois da primeira adição do fertilizante NH_4NO_3 . Como é possível observar, todas as amostras apresentaram teores de nitrogênio total semelhantes entre si, mesmo na amostra da planta coletada na região da sonda 4 em que foi adicionado excesso do fertilizante. Isso pode ter ocorrido devido à diluição desses nutrientes na planta decorrente do crescimento da mesma ou ainda pelo fato da planta não ter conseguido absorver esses nutrientes até o período em que as coletas foram feitas. Assim, como não foram encontrados teores elevados de N nas amostras, resolveu-se coletar amostras também da superfície do solo e analisá-las juntamente com as amostras coletadas a 20 cm de profundidade na região de cada sonda. Dessa maneira, poderia ser verificado se o fertilizante estaria retido na superfície do solo, já que o mesmo não foi encontrado na planta e nem percolou até a região do sensor, pois não houve variação acentuada dos potenciais das sondas potenciométrica. Os resultados dessas análises estão apresentados no Figura 6.14.

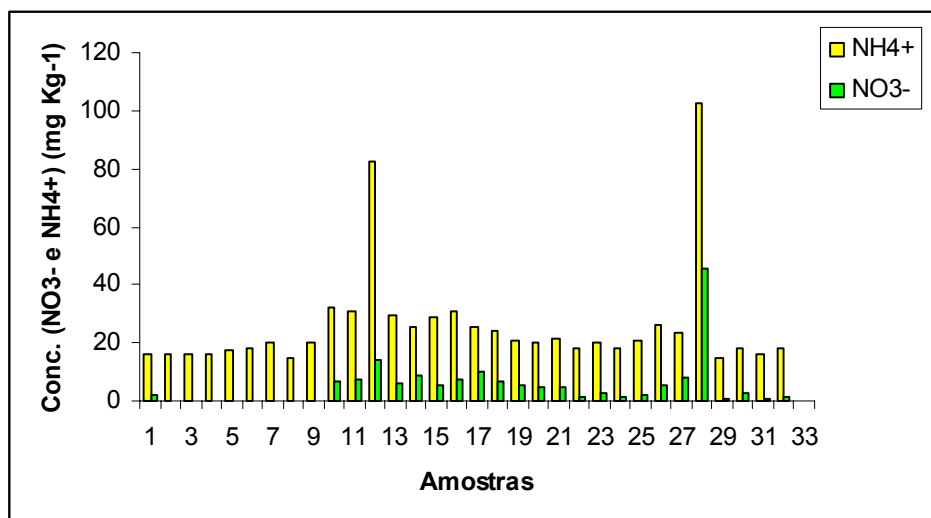


FIGURA 6.14 – Extração de nitrato e amônio nas 32 amostras de solo utilizando solução de KCl 1 mol L⁻¹ e determinação espectrofotométrica (reação de Berthelot).

A extração de NH₄⁺ e NO₃⁻ foi realizada utilizando uma solução de KCl 1 mol L⁻¹ e posteriormente determinada utilizando reação de Berthelot adaptada a um sistema em fluxo (LEMOS et al.,2002). No primeiro instante determina-se a concentração de NH₄⁺ e em seguida a determinação de NO₃⁻ é realizada pela quantificação de NH₄⁺ obtido pela redução do NO₃⁻ por um redutor forte (Zn).

As amostras 09 a 16 foram coletadas no mesmo dia, sendo que as quatro primeiras foram coletadas na superfície do solo e as quatro ultimas a 20 cm de profundidade do solo, um mês depois da primeira adição do fertilizante. Como podem ser observados nos resultados apresentados na Figura 6.14, os teores de nitrato e amônio encontrados nas amostras da superfície do solo foram superiores aos teores encontrados a 20 cm, menos na amostra 09, que foi coletada na superfície do solo na região da sonda 1, utilizada como testemunha. As amostras 25 a 30 também foram coletadas no mesmo dia, referente a 30 dias após a adição da segunda dosagem do fertilizante. Como é possível observar também foram encontrados, nas amostras coletadas na superfície do solo (26 a 28), teores de nitrato e amônio superiores aos encontrados nas amostras coletadas a 20 cm de profundidade, no solo exceto na amostra nº 25, coletada na superfície, próxima da região da sonda 1.

Frente a esses resultados, constata-se que o motivo de não terem ocorrido variações nos potenciais das sondas em que foram adicionados NH_4NO_3 foi devido a não ter ocorrido percolação desses nutrientes no perfil do solo até a profundidade em que os sensores estavam localizados. Isso provavelmente em função da baixa umidade do solo, que dificultou a movimentação dos nutrientes. Os nutrientes podem ter sido também utilizados pelos microorganismos presentes no solo. Trata-se de uma matriz complexa que sofre influência de vários parâmetros, entre os quais: atividade microbiológica, umidade e temperatura. Essas variáveis influenciam tanto na distribuição dos nutrientes no solo como na resposta dos sensores, o que dificultou a proposta inicial do estudo. Nas condições do experimento foi possível observar que as sondas conseguiram medir a variabilidade dos nutrientes estudados de forma precisa e reprodutiva. Dessa maneira, essas sondas poderiam ser utilizadas como ferramenta para auxiliar na obtenção de informações de interesse agrônomo, promovendo o estabelecimento de procedimentos racionais e controlados de cultivo. Com o conhecimento da distribuição dos nutrientes no solo é possível evitar problemas como a contaminação do solo e das águas superficiais causados por nitrato percolado de solo agrícolas, decorrente da utilização excessiva de fertilizantes, que pode causar problemas como a eutrofização das águas, além de problemas relacionados à saúde humana. Como, por exemplo, a metahemoglobina em crianças, que pode ser fatal nos primeiros anos de vida, cuja contaminação se dá através da ingestão de água contamina com nitrato (LAQUANA, 2006).

Capítulo 7

Conclusões

7- Conclusões

Entre os extratores utilizados para a extração de $P-PO_4^{3-}$ no solo, o Mehlich-1 forneceu resultados superestimados. Isso talvez se deva ao fato das coletas das amostras de solo terem sido realizadas 48 horas após a adição de uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de fosfato monobásico. Dessa maneira, não houve tempo suficiente para que esse fosfato adicionado entrasse em equilíbrio com o solo. Assim, por se tratar de uma solução ácida, além do fósforo lábil também foi extraído o fósforo que não estava em equilíbrio.

Visto que resina de troca iônica extrai do solo o fósforo disponível para as plantas, e que nas condições do experimento foi a que apresentou melhor correlação com os resultados apresentados pelos sensores, a sonda potenciométrica poderia ser utilizada como ferramenta de auxílio para determinação desse nutriente no solo. Dessa maneira, o conhecimento da distribuição de fósforo no solo em tempo real permitiria um maior controle relacionado ao uso de fertilizantes fosfatados nas culturas, evitando assim a morte das mesmas causadas por excesso ou falta desse nutriente.

O Mehlich-3 apresentou baixa eficiência na extração de fósforo para o tipo de solo estudado, embora outros autores recomendem esse extrator.

Os sensores localizados a 5 cm de profundidade não apresentaram boa correlação entre os teores de fósforo obtidos pelos métodos de extração avaliados e os potenciais registrados pela sonda, visto que a temperatura influencia na distribuição de fósforo na superfície do solo, além de se considerar também a variação da temperatura no comportamento dos sensores potenciométricos.

Foi possível observar que houve uma tendência similar entre os resultados obtidos com os sensores da sonda potenciométrica, localizados a 20 cm de profundidade no solo e os resultados provenientes dos métodos avaliados para a extração de fósforo, visto que a essa profundidade existe menor variação da temperatura.

Com relação às sondas construídas para a determinação de nitrato e amônio, como os sensores estavam localizados a 20 cm de profundidade, não ocorreu variação acentuada no potencial dos sensores, pois o fertilizante nitrogenado foi adicionado à superfície e em função do baixo índice pluviométrico no período, não

houve percolação pelo perfil do solo até a profundidade em que os sensores estavam localizados, ou seja, a 20 cm de profundidade.

A umidade e a temperatura do solo são fatores significantes sobre o potencial apresentado pelos sensores seletivos a P – PO_4^{3-} , NH_4^+ e NO_3^- . No entanto, não seria possível afirmar que essas variáveis tenham influência apenas no potencial dos sensores, pois as mesmas estão diretamente relacionadas com a distribuição e a movimentação desses nutrientes no solo.

Em geral, os sensores potenciométricos estudados se mostraram promissores na avaliação da variação dos nutrientes no solo, tendo em vista que o protótipo de análise *in situ* utilizando sensores íon-seletivos a base de membrana de PVC permitiu o monitoramento do comportamento dos nutrientes estudados com eficiência. Os sensores íon-seletivos, quando aplicados diretamente no solo, apresentaram resultados similares com aqueles gerados por métodos de comparação usualmente empregados para fins de fertilidade.

Enfim, os resultados mostrados neste trabalho indicam a possibilidade do uso das sondas potenciométricas a base de membrana de PVC para obtenção de informações de interesse agrônomo podendo, dessa maneira, auxiliar no estabelecimento de procedimentos racionais e controlados do uso de fertilizantes para o cultivo.

Referências



Referências

AE, N.; ARIHARA, J.; OKADA, K.; YOSHIHARA, T. & JOHANSEN, C. “ Phosphorus uptake by pigeon pea and its role in cropping systems of the Indian subcontinent”. *Science*, **248**, 477, 1990.

AOAC. *Official methods of analysis of AOAC international.*, 16a ed. Cap. 2 e 3. CUNNIFF P. (Ed.). Arlington. AOAC International, p.984, 1995.

ARTIGAS, J. *Desenvolupament de Sensors Potenciomètrics D'Estat Sòlid per a Usos Mediambientals i Agroalimentaris*. Bellaterra, Universidade Autònoma de Barcelona, 2003. Tese de doutorado.

BARBER, S. A. *Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach*. New York: Jonh Wiley & Sons, p.414, 1995.

BASSETT, R. C.; SENNEY R. C.; JEFFERY G. H. & MENDHAM J. *Análise inorgânica quantitativa*, 4ª ed., Rio de Janeiro, Editora Guanabar S.A., 1981.

BOYER, E. W. & HOWARTH, R. W. “The nitrogen cycle at regional to global scales”. Dordrecht, The Netherlands: kluwer Academic Publishers, 2002.

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.

CÁCERES, E.J.B. *Disseny, Construcció i Avaluació D'Analitzadors per a la Monitorització Mediambiental*. Bellaterra, Universidade Autònoma de Barcelona, 2001. Tese de doutorado.

CAHN, M. D.; BOULDIN, D. R.; CRAVO, M. S. & BOWER, M. T. "Cation and nitrate leaching in an oxisol of the Brazilian Amazon". *Agronomy Journal*, **58**(2), 334, 1993.

CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. & NEVES, M. C. P. *Microbiologia do Solo*, Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.

CASFS. *Training manual*. Disponível na Internet em <http://zzyx.ucsc.edu/casfs/training/manual/>. Acessada em janeiro de 2004.

CHEN, D.; LAZARO, F.; DECASTRO, L. & VALCÁRCEL M. "Direct Spectrophotometric Determination of Total Boron in Soil With Ultrasonic Leaching in Automatic Flow Systems". *Analytica Chimica Acta*, **226** (2), 221, 1989.

DE BEER, D. & VAN DEN HEUVEL, J. C. "Response of ammonium-selective microelectrodes based on the neutral carrier nonactin". *Talanta*, **35**, p.728, 1988.

DYNIA, J. F. "Nitrate retention and leaching in variable charges soils of a watershed in São Paulo state, Brazil". *Communications Soil Science in Plant Analysis*, **32** (5/6), 777, 2000.

EDMONDS, T.E.; COUTTS G. "Flow-injection analysis for determining soil-pH". *Analyst*, **108**, 1013, 1983.

EMBRAPA. *Tecnologia em mecanização no Brasil: Equipamentos e sistemas para o futuro*. Disponível na internet em <http://www.bases.cnpdia.embrapa.br/cria/gip/gipap/seminario.doc>. Acessada em 12 de novembro 2005.

ESTELA, J. M. & CERDÀ V. "Flow analysis techniques for phosphorus: an overview", *Talanta*, **66**, 307, 2005.

FAO United Nations Food and Agricultural Organization . FAO agricultural data bases. Disponível na internet em www.fao.org. Acessada em setembro de 2004.

FERNANDES, L. A.; NETO, A. E. F.; CURI, N.; LIMA, J. M. & GUEDES, G. A. A. Fósforo e a atividade de fosfatase em dois solos sob diferentes condições de uso. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **33**, p.1159,1998.

GHAURI, M. S.; THOMAS, J. D. R. Evaluation of an ammonium ionophore for use in poly (vinyl chloride) membrane ion-selective electrodes solvent mediator effects. *Analyst*, **119** (11), p.2323, 1994.

GREENLAND, D. J., *Soil organic matter in relation to crop nutrition and management*. In: Proceeding of the International Conference on the Management and Fertilization of Upland Soils in the Tropics and Subtropics. Najin: Chinese Academy Of Sciences, 1988, 85p.

GUILHERME, L. R. G. "Causas da baixa fertilidade". *DBO Agrotecnologia*, **2**, 6-7, 2005.

HULANICKI, A.; GLAB, S. & INGMAN, F. "Chemical sensors definitions and classification". *Pure and Applied Chemistry*, **63** (9), 1247, 1991.

JÚNIOR, L. R.; NETO, G. O.; LIMA, J. L. F. C.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M. Construção e avaliação de um eletrodo tubular íon-seletivo a amônio com ionóforo nonactina. *Química Nova*, **19** (5), p.549, 1996.

KAMOGAWA, M. Y.; NOGUEIRA, A. R. A.; MIYAZAWA, M.; ARTIGAS, J. & ALONSO, J. "Determination of soil calcareous efficiency using flow system with pervaporative separation". *Analytica Chimica Acta*, **438**, 273, 2001.

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.

KRUG, F. J. *Pré-Tratamento de Amostras*. II Workshop on Methods of Sample Decomposition, Piracicaba, CENA-USP, 1998.

LAQUANA- UFPA, *Determinação de nitrado em águas método do ácido fenoldissulfônico*. Disponível na Internet em:

http://www.ufpa.br/ccen/quimica/laboratorio%20de%20qanalmoderna_arquivos/page0011.htm. Acessada em maio de 2006.

LEMOS, S.G.; NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA G. B. *Determinação de formas inorgânicas de nitrogênio por análise em fluxo*. São Carlos; Embrapa Pecuária Sudeste, 2002.

LEMOS, S.G.; NOGUEIRA, A. R. A. & TORRE-NETO, A. “ A agricultura na era da informação: desafios e propostas para automação em análises de solos” *Analytica*, **08**, 42, 2004.

LEMOS, S. G. *Análise em fluxo e análise in situ como estratégia de melhoramento da seqüência analítica de amostras agronômicas*, São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química, 2005. Tese de Doutorado.

LOPES, A. S. *Manual de Fertilidade do Solo*. Piracicaba, ANDA/POTAFÓS, 1989.

LOURENÇO, R.W & LANDIM, P. M. B. *Análise de regressão múltipla espacial*. UNESP/Rio Claro. Disponível na internet em <http://www.rc.unesp.br/igce/aplicada/texto di.html>. Acessada em 24 de junho de 2006.

MACHADO, M. I. C. S.; BRAUNER, J. L. & VIANNA, A. C. T. Formas de fósforo na camada arável de solos do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, **17** (3), 331, 1993.

MADOU, M. J. & MORRISON S. R. *Chemical sensing with solid-state devices*. San Diego, Academic Press, 1989.

MALAVOLTA E., VITTI, G. C. & DE OLIVEIRA, S.A. *Avaliação do estado nutricional das plantas princípios e aplicações*. Piracicaba, K & P Potafos, 1989.

- MALAVOLTA, E. “Fósforo: ele é essencial – sem fósforo as plantas não vivem”. *Arquivo do agrônomo*, **10**, 1996.
- MANTOVANI, E, C.; QUEIROZ, D. M. & DIAS G.P. “Máquinas e operações utilizadas na agricultura de precisão” *Mecanização e agricultura de Precisão: Poços de Caldas: UFLS/SBEA*, 109, 1998.
- MARUCHI, A.K. *Fracionamento de Fósforo em Plantas Empregando Diferentes Procedimentos de Preparo de Amostras e Sistemas de Análise em Fluxo Monossegmentado*. São Paulo, Programa de Pós-graduação em Química – Universidade de São Paulo Instituto de Química, 2005. Dissertação de mestrado.
- 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.
- MUCHOVEJ, R. M. & RECHCIGL, J. E. *Nitrogen fertilizants. Soil Amendments and enviromental quality*. Boca raton: Lewis,1,1995.
- NETO, G. D.; GODINHO, O. E.S.; ALEIXO, L. M. & DASILVA, V.L. Utilization of canavalia – maritima biocatalyst for urea biosensors. *Electroanalysis*, **6** (7), p. 593, 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.
- NOGUEIRA, A. R. A. & SOUZA, G.B. *Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos*, São Carlos, Embrapa Pecuária Sudeste, 2005.
- 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.

OLIVEIRA, F. C.; MATTIAZZO, M. E.; MARCIANO, C. R. & MORAIS, S. O. Lixiviação de nitrato em um latossolo amarelo distrófico tratado com lodo de esgoto e cultivado com cana-de-açúcar. *Scientia Agrícola*, **58** (1), 171, 2001.

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.

PONTES, F. V. M.; MONTEIRO, M. I. C.; SILVA, L. I. D. & CARNEIRO, M. C. "Método do indofenol para determinação de nitrogênio em amostras de solo" XII Jornada de Iniciação Científica do CETEM, Rio de Janeiro, 2004 p.1-9.

RAIJ, B. VAN; QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H.; FERREIRA, M. E.; LOPES, A. S. & BATAGLIA, O. C. *Análise de solos para fins de fertilidade*. Campinas, Fundação Cargill, 1987.

RAIJ, B. VAN, *Fertilidade do solo e adubação*. Piracicaba, Editora Agronômica Ceres, 1991.

REIS, M. G. F. & BARROS, N. F. "Ciclagem de nutrientes em plantios de eucalipto Relação solo-eucalipto". *Folha de Viçosa*, 265,1990.

ROZA, D. "Novidade no Campo : Geotecnologias renovam a agricultura". *Revista InfoGEO*, **11**- jan/fev, 2000.

SAYAL, S. & DE DATTA, S. *Chemistry of phosphorus transformation in soil*. Advances in Soil Science, 16, 2, 1991.

SILVA, F. C. *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. Brasília, Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia,1999.

SILVA, L. I. D.; CARNEIRO, M. C.; EMÍDIO, V. S.; JUNIOR, S. S. H. & MONTEIRO, M. I. C. "Determinação das formas de nitrogênio e nitrogênio total em rochas-reservatório de petróleo por destilação com arraste de vapor e método do indofenol". *Química Nova*. **29** (1), 46, 2006.

SYERS, J.K. Managing soils for long-term productivity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* (**B**) 352, 1011, 1997.

TIESSEN, H.; STEWART, J. W. B. & COLE, C. V. Pathways of phosphorus transformations in soils of differing pedogenesis. *Soil Science Society of American Journal*. **48** (2), 853, 1984.

TORRES, P.; GARCÍA –MESA, J. A.; LUQUE DE CASATRO M. D. & VALCÁRCEL M. "Determination of soil pH by use of robotic station". *Journal os Analytical Chemical*, **346**, 704, 1993.

VALLADARES, G. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, J. M. P. F; PÉREZ, D. V. & ANJOS, L. H. C. Comparação entre os teores de nutrientes extraídos por três métodos em amostras de solos do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. de Agrociência*, **7** (2), 137, 2001.

VITOUSEK, P.M. *The effects of deforestation on air, soil and water*. The major biogeochemical cycles and their interactions, Chinchester: Wiley, 1983.

WALKER, T. W. ; SYERS, J. K. The fate of phosphorus during pedogenesis. *Geoderma*, **15** (1), 1, 1976.

YAMADA, T. ; ABDALLA, S. R. S. *Fósforo na agricultura brasileira*, Piracicaba, Potafos, 2004.

YASUHARA, T. ; NOKIHARA, K. High-throughput analysis of total nitrogen content that replaces the classic Kjeldahl method. *Journal of agricultural and food chemistry*, **49**, 4581, 2001.