

Desenvolvimento de spot test com para determinação do teor de fósforo em amostras de solo com quantificação por imagem digital.

Development of a spot test to determine the phosphorus content in soil samples with digital image quantification.

RESUMO

As análises de solo são feitas para a avaliação da disponibilidade de nutrientes para as plantas e da reação do solo. A determinação do fósforo presente na amostra, por espectrofotometria, é baseada na transformação química dessa substância num complexo colorido. Propôs-se neste trabalho o desenvolvimento de um spot test para determinação de fósforo em solo, com quantificação pelo aplicativo Photometrix® em ambiente com luminosidade controlada, utilizando para efeitos de comparação os resultados obtidos na metodologia clássica de análise. A metodologia padrão de análise foi adaptada para o sistema proposto, reduzindo o uso de reagentes em 60%. Obtendo excelente exatidão, erro de 1,2%, quando comparado com o valor certificado e, desvio padrão relativo de 1%, uma linearidade de 0,1-1 mg/L, limite de detecção de 0,01 mg/L e limite de quantificação de 0,03 mg/L. Assim, o uso do spot test associado com a detecção pelo aplicativo Photometrix, em sistema de luminosidade controlada, mostrou ser uma alternativa promissora para medidas de absorbância tradicionais na determinação de fósforo em amostras de solo.

PALAVRAS-CHAVE: Photometrix. Teste quantitativo. Imagem digital.

ABSTRACT

Soil analysis are done to assess nutrient availability for plants and soil reaction. The determination of the phosphorus present in the sample, by spectrophotometry, is based on the chemical transformation of this substance into a colored complex. It was proposed in this work the development of a spot test for the determination of phosphorus in the soil, with quantification by the Photometrix® application in a controlled light environment, using the results obtained in the classical analysis methodology for comparison purposes. The standard analysis methodology was adapted to the proposed system, reducing the use of reagents by 60%. Obtaining excellent accuracy, an error of 1.2%, when compared to the certified value, and relative standard deviation of 1%, linearity of 0.1-1 mg / L, a detection limit of 0.01 mg/L, and quantification limit of 0.03 mg/L. Thus, the use of the spot test associated with the detection by the Photometrix® application, in a controlled light system, proved to be a promising alternative for traditional absorbance measurements in the determination of phosphorus in soil samples.

KEYWORDS: Photometrix. Quantitative test. Digital image.

Eduarda Aguita Severo
eduardaaguitasevero@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil.

Oldair Donizeti Leite
oldair.leite@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil.

Eder Lisandro de Moraes Flores
eder@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil.

Carolina Madureira Castro de Paula
Carolinamc.paula@gmail.com
Colégio Estadual Marechal Arthur Costa e Silva, Medianeira, Paraná, Brasil.

Recebido: 04 set. 2020.

Aprovado: 16 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

A análise química do solo é um dos métodos quantitativos mais utilizados para diagnosticar a fertilidade do solo. A análise de solo é feita para a avaliação da reação do solo e da disponibilidade de nutrientes para as plantas. Serve, assim, para a prescrição de corretivos e fertilizantes. Desta forma, a análise de solo pode colaborar para a solução de desafios que incluem a necessidade de aumentar e otimizar o uso de corretivos e fertilizantes em uma diversidade de condições de solo, aumentar o retorno econômico do investimento nos insumos, melhorar a qualidade dos produtos agrícolas, elevar a resistência à seca, doenças e pragas e, concomitantemente, preservar a qualidade ambiental (SILVA,1998; RAIJ,2001).

Em geral as plantas necessitam de 16 elementos para o desenvolvimento e crescimento adequado. Treze destes elementos, comumente denominados nutrientes, podem estar disponíveis no solo ou a depender podem ser complementados pelo emprego de adubo mineral e/ou orgânico. Entre estes elementos se destaca o fósforo que é indispensável para o crescimento e produção vegetal, interfere nos processos de fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, divisão celular, crescimento das células. Contribui para o crescimento prematuro das raízes, qualidade de frutas, verduras, grãos e formação das sementes. Por interferir em vários processos vitais das plantas, deve haver um suprimento adequado de fósforo desde a germinação, principalmente em plantas de ciclo curto. As plantas quando jovens absorvem maiores quantidades de fósforo ocorrendo um crescimento rápido e intenso das raízes em ambientes com níveis adequados do nutriente. A erosão é a responsável pelas maiores perdas de fósforo, quando ocorrem perdas de matéria orgânica e partículas coloidais com fósforo (GRANT,2001).

A determinação do fósforo presente na amostra, comumente é feita por espectrofotometria molecular na região do visível, que é baseada na transformação química dessa substância num complexo colorido (STRICKLAND,1965), e é o procedimento comumente mais utilizado para as análises de fósforo devido sua sensibilidade e menor suscetibilidade a interferentes que coexistam nas amostras de solo analisadas (LEITE, 2010). Métodos de análises químicas baseadas na formação de produtos coloridos a partir da reação de um analito de interesse com um reagente específico tem sido amplamente utilizado, sendo estes denominados de métodos colorimétricos. Sem dúvida, a espectrofotometria na região do visível é a técnica mais aplicada nas análises colorimétricas quantitativas.

Na literatura são reportados muitos spots test aplicados em análises quantitativas e, na maioria, a leitura é feita por espectrofotometria de reflectância difusa (TUBINO,1997; GHAUCH,2000; MATIAS,2004; TUBINO, 2010; LIMA, 2012; LUIZ, 2012). Entretanto, recentemente têm sido reportados na literatura trabalhos envolvendo conceitos de spot test e detecção por imagens digitais (PACIORNIK, 2006; ABE,2008; CARRILHO,2009; ANWAR,2010; SHIHANA,2010). Nestes trabalhos, os autores destacam as vantagens de utilizar scanner, câmera digital, smartphones entre outros dispositivos, em relação as medidas espectrofotométricas.

Um aplicativo que tem sido comumente utilizado como forma de detecção por imagens digitais é o Photometrix®, uma ferramenta de análise colorimétrica

móvel. O aplicativo, utiliza as técnicas de correlação linear simples para análise univariada e análise de componentes principais (PCA) para análise exploratória multivariada. Os dados da imagem são capturados pela câmera principal do dispositivo (smartphone) e convertidos em histogramas vermelho, verde e azul (RGB), a partir dos quais são obtidos sinais analíticos de acordo com a intensidade da cor (HELPER,2017).

Neste trabalho foi proposto o desenvolvimento de um spot test para determinação de fósforo em extrato de solo, captura das imagens por smartphone e, quantificação do sinal analítico empregando o aplicativo Photometrix®.

METODOLOGIA

No procedimento de extração das amostras de solo, foi utilizado o protocolo de análise proposto pela EMBRAPA (2011).

A determinação de fósforo clássica, foi realizada por espectrofotometria de absorção molecular, do complexo fosfomolibdico produzido pela redução do molibdato com o ácido ascórbico, conforme protocolo estabelecido pela AOAC (1995) e NBR 12772 (1992).

Para a metodologia proposta, foi desenvolvido um sistema com controle de luminosidade para obtenção das imagens e com uma microcâmera com saída USB conectada a um smartphone com acesso ao aplicativo Photometrix® (Figura 1). O aplicativo foi utilizado para obtenção da curva de calibração, valores de RGB da amostra e quantificação das concentrações de fósforo nas amostras de extrato de solo.

Figura 1 – Protótipo proposto para obtenção das medidas empregando spot test e detecção por imagem digital.



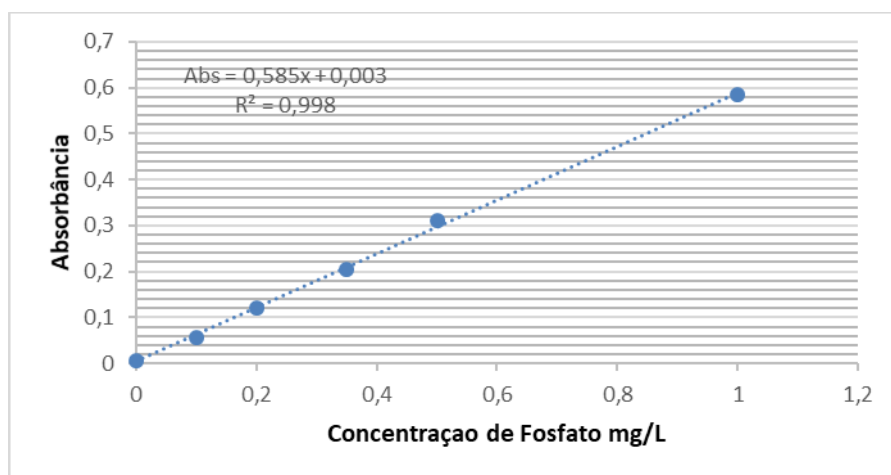
Fonte: Autor,2020.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos para a otimização dos volumes reacionais no Spot Test foram realizados e foram estabelecidos os seguintes volumes: 0,2 mL reagente combinado e 1 mL de amostra. Comparando os volumes empregados no método clássico de análise, obteve-se uma diminuição de 60% no volume do reagente combinado e de amostra quando utilizado o Spot Test.

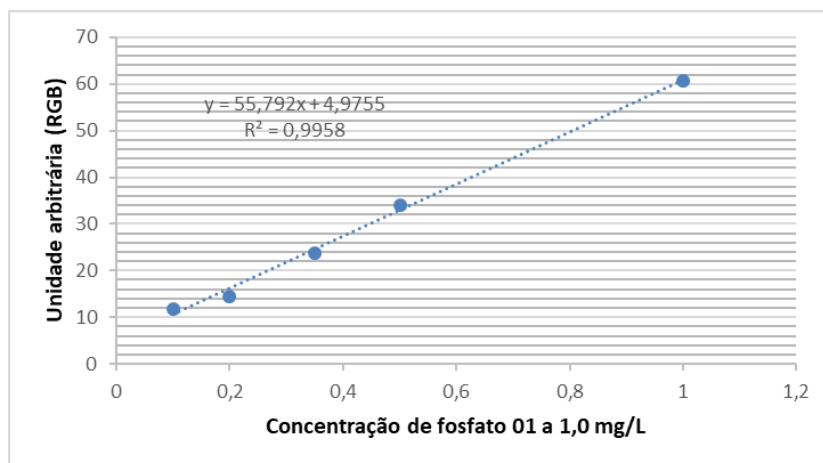
Nas figuras 2 e 3 são apresentadas curvas analíticas obtidas para determinação de fosfato no intervalo de concentração entre 0,1 a 1 mg/L empregando medidas espectrofotométricas (Fig. 2) e, empregando Spot Test com detecção por imagens digitais (procedimento proposto).

Figura 2. Curva de calibração para determinação de PO_4^{3-} no intervalo de concentração entre 0,1 a 1 mg/L, com detecção espectrofotométrica em 882 nm



Fonte: Autor, 2020.

Figura 3. Curva de calibração para determinação de PO_4^{3-} no intervalo de concentração entre 0,1 a 1 mg/L, empregando o Spot Test com detecção por imagem digital via aplicativo Photometrix.



Fonte: Autor, 2020.

Avaliando as curvas de calibração, foram obtidos excelentes coeficientes de correlação ($R^2 = 0,998$ e $R^2 = 0,995$) para a determinação espectrofotométrica e por imagem digital, respectivamente.

Para avaliar a exatidão e precisão do procedimento proposto, foram realizadas determinações ($n=6$) de uma amostra certificada de solo (Embrapa Solo) contendo $16,4 \pm 0,2$ mg/dm³ de fósforo. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – resultados obtidos na determinação de P em solo certificado contendo $16,4 \pm 0,2$ P mg/dm³, empregando a metodologia padrão AOAC (1995) e protocolo proposto Spot Test/Imagem digital.

Solo Cert. $16,4 \pm 0,2$ P mg/dm ³	Met. Referencia AOAC (1995) P mg/dm ³	Prot. Proposto Spot Test/Imag. Dig. P mg/dm ³
Determ. 1	16,8	16,2
Determ. 2	16,6	16,1
Determ. 3	16,3	16,5
Determ. 4	15,6	16,0
Determ. 5	15,2	16,1
Determ. 6	15,6	16,5
<u>Média ± SD</u>	16,0 ± 0,6	16,2 ± 0,2

Fonte: Autor, 2020.

Analisando os resultados médios obtidos (aplicação do teste t pareado) empregando os procedimentos analíticos na Tabela 1 ($16,0 \pm 0,6$ e $16,2 \pm 0,2$ mg/dm³) não foi observada diferença significativa entre os mesmos a um nível de confiança de 95%. O valor obtido com o procedimento proposto apresentou excelente exatidão, erro de 1,2%, quando comparado com o valor certificado e, preciso, desvio padrão relativo de 1%.

As figuras de mérito do procedimento com o Spot Test com detecção por imagem digital são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Figuras de mérito obtidas com o Spot Test/Imagem digital para determinação de P mg/dm³.

Figuras de mérito	
Linearidade	0,1 – 1 mg/L
Limite de detecção (L.D)	0,01 mg/L
Limite de quantificação (L.Q.)	0,03 mg/L

Fonte: Autor, 2020.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nas análises com o sistema proposto, verifica-se a concordância com os resultados obtidos por detecção espectrofotométrica com um nível de confiança de 95%. Desta forma, o uso do spot test associado com a detecção por imagem digital feita pelo aplicativo Photometrix®, em sistema de luminosidade controlada, mostrou ser uma alternativa promissora e viável para medidas de absorbância tradicionais na determinação de fósforo em amostras de solo.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos aos órgãos de fomento: UTFPR – Campus Medianeira, Fundação Araucária, CAPES, CNPQ e ao Laboratório de Análise Instrumental e Tecnologia Química.

REFERÊNCIAS

ABE K., SUZUKI K. e CITTERIO D. Inkjet printed micro fluidic multi analyte chemical sensing paper. Analytical Chemistry, v. 80, n. 18, p. 6928-34, 2008.

ANWAR J., WAHEED-UZ-ZAMAN, SHAFIQUE M. U. e SALMAN M. Computational Quantification of Spot Tests by Image Scanning-a New Analytical Technique for Micro Samples. Analytical Letters, v. 43, n. 2, p. 367-371, 2010.

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

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – NBR 12772: Determinação de fósforo, Rio de Janeiro, 1992. p.18.

CARRILHO E., PHILLIPS S. T., VELLA S. J., MARTINEZ A. W. e WHITESIDES G. M. Paper Microzone Plates. Analytical Chemistry, v. 81, n. 15, p. 5990-5998, 2009.

GHAUCH A., TURNER C., FACHINGER C., RIMA J., CHAREF A., SUPTIL J. e MARTIN-BOUYER M. Use of diffuse reflectance spectrometry in spot test reactions for quantitative determination of cations in water. Chemosphere, v. 40, n. 12, p. 1327-1333, 2000.

GRANT, C. A.; FLATEN, D. N.; TOMASIEWICZ, D. J.; SHEPPARD, S. C. A IMPORTÂNCIA DO FÓSFORO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DA PLANTA. 2001. POTAFOS. Disponível em: [http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/43C5E32F5587415C83257AA30063E620/\\$FILE/Page1-5-95.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/43C5E32F5587415C83257AA30063E620/$FILE/Page1-5-95.pdf). Acesso em: novembro, 2019.

HELPER, Gilson A. et al. PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices. J. Braz. Chem. Soc. São Paulo. v.28. n.2. p.328-335. 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532017000200328&lng=en&nrm=iso . Acesso em agosto, 2020.

LEITE, Oldair Donizeti. PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS EM FLUXO PARA MONITORAMENTO DE ESPÉCIES INORGÂNICAS E COMPOSTOS FENÓLICOS EM ÁGUAS DE ABASTECIMENTO DA REGIÃO OESTE DA BAHIA. UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - INSTITUTO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL - CAMPUS PROF. EDGARD SANTOS. Barreiras, 2010.

LIMA M. B., ANDRADE S. I. E., BARRETO I. S., ALMEIDA L. F., SILVA E. C. e ARAUJO M. C. U. Quantitative spot test analysis of soluble tannin in green tea using a portable diffuse reflectometer. Analytical Methods, v. 4, n. 8, p. 2329-2333, 2012.

LUIZ V. H. M., PEZZA L. e PEZZA H. R. Determination of nitrite in meat products and water using dapsone with combined spot test/diffuse reflectance on filter paper. Food Chemistry, v. 134, n. 4, p. 2546-2551, 2012.

MATIAS F. A. A., VILA M. M. D. C. e TUBINO M. Quantitative reflectance spot test for the determination of acetyl salicylic acid in pharmaceutical preparations. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 15, n. 2, p. 327-330, 2004.

PACIORNIK S., YALLOUZ A. V., CAMPOS R. C. e GANNERMAN D. Scanner image analysis in the quantification of Mercury using spot-tests. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 17, n. 1, p. 156-161, 2006;

RAIJ, B. van. ANDRADE, J. C. de. CANTARELLA, H. QUAGGIO, J.A. Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais. INSTITUTO AGRONÔMICO, Campina- SP. 2001.

SILVA, F. C. da; EIRA, P. A. da; BARRETO, W. de O.; PEREZ, D. V.; SILVA, C. A. Manual de métodos de análises químicas para avaliação da fertilidade do solo. 1998. Embrapa Solos. Disponível em: <https://www.embrapa.br/solos/busca-de-publicacoes/-/publicacao/335210/manual-de-metodos-de-analises-quimicas-para-avaliacao-da-fertilidade-do-solo>. Acesso em: agosto, 2018.

SHIHANA F., DISSANAYAKE D. M., BUCKLEY N. A. e DAWSON A. H. A Simple Quantitative Bedside Test to Determine Methemoglobin. Annals of Emergency Medicine, v. 55, n. 2, p. 184-189, 2010.

STRICKLAND, J. D. H. PARSONS, T.R. A manual of sea water analysis, with special reference to the more common micronutrientes and to particulate organic material. Fisheries Research Board of Canada, Bull n.125, second edition, 1965, 203.

TUBINO M., ROSSI A. V. e MAGALHÃES M. E. A. Quantitative Spot Tests Of Fe (III), Cr (VI) And Ni (II) By Reflectance Measurements. Analytical Letters, v. 30, n. 2, p. 271-282. 1997.

TUBINO M., BIANCHESSI L. F. e VILA M. M. D. C. Quantitative Spot-Test Analysis of Metformin in Pharmaceutical Preparations Using Ultraviolet-Visible Diffuse Reflectance Spectroscopy. Analytical Sciences, v. 26, n. 1, p. 121-124, 2010.