

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

MATEUS DE CARVALHO VELUDO

**FONTES DE IMPRECISÃO NA DETERMINAÇÃO DE S DISPONÍVEL
POR TURBIDIMETRIA**

**Uberlândia – MG
Junho – 2023**

MATEUS DE CARVALHO VELUDO

**FONTES DE IMPRECISÃO NA DETERMINAÇÃO DE S DISPONÍVEL
POR TURBIDIMETRIA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr.
Wedisson Oliveira Santos

MATEUS DE CARVALHO VELUDO**FONTES DE IMPRECISÃO NA DETERMINAÇÃO DE S DISPONÍVEL
POR TURBIDIMETRIA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr.
Wedisson Oliveira Santos

Aprovado pela Banca Examinadora em 28 de junho de 2023

Prof. Dr. Wedisson Oliveira Santos
Orientador

Dr. Igor Forigo Beloti
Membro da Banca

Ms. Jéssica Mieko Ota Alves
Membro da Banca

**Uberlândia – MG
Junho – 2023**

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho à minha família, em especial a meus pais, Eduardo e Jordana, que foram responsáveis por me orientar ao longo da minha trajetória pessoal e me permitiram atingir o feito de graduar em uma Universidade de tamanha qualidade.

Agradeço ao meu professor orientador, Dr. Wedisson Oliveira Santos, que tanto me ensinou durante a graduação, sempre estando disponível para esclarecer as mais diversas dúvidas e que fomentou meu interesse por entender as coisas de forma mais aprofundada.

Agradeço ao Núcleo de Química e Fertilidade do Solo da Universidade Federal de Uberlândia, que me ajudou a aprimorar meus conhecimentos na área de química e fertilidade do solo e me apoiou na execução deste projeto.

Agradeço ao LABAS, por ter me recebido e dado todo o suporte instrumental, motivacional e teórico por meio de seus técnicos, Igor Beloti, Jéssica Alves e Rafael Finzi; permitindo assim a execução deste trabalho.

Por fim, agradeço aos meus colegas e companheiros da Universidade, que me auxiliaram na execução deste projeto e me motivaram para que eu fosse capaz de concluí-lo com capricho e determinação.

RESUMO

A análise dos teores disponíveis de S do solo com dosagem turbidimétrica apresenta baixa acurácia, e as causas são pouco conhecidas. Assim, o objetivo do trabalho foi identificar fontes de imprecisão no método oficial de Minas Gerais de determinação de S disponível (PROFERT). No método, utiliza-se como extrator a solução de fosfato monocálcico - $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, 500 mg/L P, em HOAc 2 mol/L. Como componentes do método avaliou-se o efeito de cubeta, de filtragem, de agitação, de tempo de armazenamento da solução de NH_4OH e de erro do espectrofotômetro na precisão analítica. Dentre os resultados apresentados, o efeito proporcionado pelo preparo de amostras com NH_4OH armazenado por 7 d acarretou em aumento da absorbância no decorrer do tempo; foi constatado efeito de erro do equipamento-espectrofotômetro Instrutherm Digital Mod. UV-2000 A.; sendo demonstrada ainda, que a imprecisão da dosagem de reagentes líquidos impacta, negativamente, de forma relevante, a precisão do método. Com isto, foi possível levantar hipóteses de causas prováveis das imprecisões que podem fomentar novas pesquisas, mais conclusivas; como a hipótese de que o armazenamento do NH_4OH pode promover volatilização de amônia, alterando o pH da solução e postergando a formação de sulfato de bário.

Palavras-chave: Acurácia; Enxofre; Hidróxido de Amônio; Turbidimetria; Quantificação S.

ABSTRACT

The analysis of available S levels in the soil using turbidimetric approach has low accuracy, and the causes are still unclear. Thus, the objective of this work was to identify sources of inaccuracy in the official method of Minas Gerais for determining available S (PROFERT). In the method, monocalcium phosphate solution - $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, 500 mg/L P, 2 mol/L HOAc is used as extractor. As components of the method, the effects of cuvette, filtration, agitation, storage time of the NH_4OH solution, and spectrophotometer error on analytical precision were evaluated. Among the presented results, the effect provided by the preparation of samples with NH_4OH stored for 7 d led to an increase in absorbance over time; an equipment error effect was detected, from the Instrutherm Digital Mod. UV-2000 A. spectrophotometer; furthermore, it was demonstrated that the inaccuracy of liquid reagent dosing negatively impacts the method's precision. With this, it was possible to raise hypotheses about probable causes of the observed inaccuracies, which may promote more conclusive new research such as the hypothesis that the storage of NH_4OH can promote ammonia volatilization, changing the pH of the solution and delaying the formation of barium sulfate, thus altering the absorbance reading.

Keywords: Accuracy; Sulfur; Ammonium Hydroxide; Turbidimetry; S Dosing.

SUMÁRIO

1	Introdução	8
2	Material e Métodos	10
	2.1 <i>Extração e dosagem de S.....</i>	10
	2.2 <i>Efeito de Cubeta</i>	11
	2.3 <i>Efeito de Filtragem.....</i>	11
	2.4 <i>Efeito de Agitação</i>	11
	2.5 <i>Efeito de Armazenamento da solução NH₄OH.....</i>	12
	2.6 <i>Efeito de Erro do Equipamento</i>	12
	2.7 <i>Efeito de Imprecisão da Dosagem.....</i>	12
	2.8 <i>Efeito de Isolamento da Cubeta</i>	13
	2.9 <i>Metodologia complementar.....</i>	13
3	Resultados.....	15
	3.1 <i>Efeito de Cubeta</i>	15
	3.2 <i>Efeito de Filtragem.....</i>	15
	3.3 <i>Efeito de Agitação</i>	16
	3.4 <i>Efeito de Armazenamento da solução NH₄OH.....</i>	17
	3.5 <i>Efeito de Erro do Equipamento</i>	18
	3.6 <i>Efeito da Qualidade do Armazenamento do NH₄OH</i>	19
	3.7 <i>Efeito de Imprecisão da Dosagem.....</i>	20
	3.8 <i>Efeito de Isolamento da Cubeta</i>	22
4	Discussão.....	23
5	Conclusões	25
	Referências	26

1 INTRODUÇÃO

Os solos, com sua complexa interação de componentes físicos, químicos e biológicos, desempenham papel fundamental no sistema terrestre, atuando como um vínculo essencial entre os ciclos hidrológico, geológico e biológico (BLUM, 2005). Estes têm um papel integral na produção agrícola e, conseqüentemente, na segurança alimentar global (FAO, 2015). Assim, a determinação exata e precisa dos teores de nutrientes no solo é imprescindível para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável e eficiente (VAN REEUWIJK, 2006).

Os nutrientes são elementos químicos vitais para a sobrevivência e reprodução das plantas, sendo absorvidos essencialmente pelas raízes, e utilizados em vários processos metabólicos e fisiológicos (MARSCHNER, 2011; EPSTEIN, 1972). Estes são classificados em macronutrientes e micronutrientes. Os macronutrientes, como N, P, K, Ca, Mg e S, são necessários em grandes quantidades (TISDALE et al., 1993), enquanto os micronutrientes são exigidos em quantidades menores. O equilíbrio nutricional é crucial para a saúde das plantas e a produtividade agrícola, sendo a falta ou excesso de nutrientes prejudicial (MENGEL, 2001).

O S desempenha várias funções nos processos metabólicos e fisiológicos das plantas, participando na formação de aminoácidos, proteínas, vitaminas e enzimas (SCHERER, 2001), sendo indispensável na formação de aminoácidos essenciais como cisteína e metionina, que são blocos construtores fundamentais de proteínas (HAWKESFORD, 2012). A deficiência de S, portanto, pode limitar a síntese proteica, afetando negativamente o crescimento e o desenvolvimento da planta. Além disso, o S tem um papel chave na fotossíntese, pois é um componente da ferredoxina, uma molécula que facilita a transferência de elétrons durante o processo fotossintético (KOBAYASHI et al., 2005).

Importante também é a contribuição do S para a resistência das plantas a doenças, pois ele é um componente de compostos de defesa, como os glucosinolatos (BLOEM et al., 2007). Adicionalmente, a deficiência de S pode reduzir a eficiência do uso de N pelas plantas, levando a um crescimento limitado (BRUNOLD et al., 1995).

Com isto, os métodos de análise de disponibilidade de nutrientes no solo são fundamentais para avaliar a fertilidade do solo e, por sua vez, permitir a gestão eficaz dos recursos naturais (LUND, 2012). No entanto, a precisão desses métodos se tornou um desafio central na ciência do solo, dada sua implicação direta na eficácia do gerenciamento de nutrientes, na predição de rendimentos de culturas e na minimização dos impactos ambientais negativos da agricultura (ROBERTSON, 2005).

Dado o papel crucial do S na nutrição das plantas, a precisão na determinação de seus teores no solo é fundamental. Essa determinação ajuda a assegurar que as plantas tenham acesso suficiente a este nutriente vital e permite o manejo eficiente dos fertilizantes de S. Uma determinação imprecisa dos níveis de S pode resultar em deficiências nutricionais, prejudicando o crescimento das plantas e a produtividade das colheitas (HAWKESFORD et al., 2012).

Os erros associados aos métodos de análise podem ter repercussões significativas. Uma estimativa imprecisa pode levar a aplicações inadequadas de nutrientes, resultando em perdas econômicas diretas para os agricultores e impactos ambientais adversos (VAN ECK, 2010). Portanto, a compreensão profunda da precisão nos métodos de determinação de teores de nutrientes é de suma importância para reorientar as práticas agrícolas atuais, incentivando um uso mais eficiente e sustentável dos recursos do solo (ANDERSON, 2015).

Os métodos de determinação de S no solo que se baseiam na dosagem por turbidimetria apresentam, em geral baixa exatidão e precisão. A turbidimetria é um método de dosagem que mede a dispersão de luz em uma suspensão sol, em que a quantidade de luz dispersada é proporcional à concentração do analito (S) na amostra (BOLT & BRUGGENWERTH, 1978). Embora este método seja amplamente utilizado devido à sua simplicidade e baixo custo, existem vários fatores que podem afetar a precisão das medições. Dentre estes, a sensibilidade à presença de partículas sólidas em suspensão na amostra que podem dispersar a luz e levar a uma superestimação da concentração de S (DICKINSON et al., 1986). A presença de compostos coloridos no solo também pode interferir com a medição, absorvendo luz e alterando a intensidade da luz dispersada (HORWITZ et al., 1980). Portanto, uma preparação cuidadosa da amostra é essencial para garantir que somente o S esteja contribuindo para a turbidez medida (JONES & CASE, 1990).

Tem-se ainda que a precisão da turbidimetria pode ser comprometida pela heterogeneidade natural do solo, que pode resultar em uma variação substancial na concentração de S entre diferentes partes da mesma amostra de solo (MCLAUGHLIN et al., 2011), além disto, os métodos de turbidimetria são menos precisos para medições de baixas concentrações de S (LUND, 2012).

Com isto, o objetivo do trabalho foi identificar possíveis fontes de imprecisão no Método Oficial de Minas Gerais (PROFERT) para determinação de S disponível no solo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nas dependências do Laboratório de Análise de Solo e Tecido Vegetal da Universidade Federal de Uberlândia (LABAS), situado no Campus Umuarama (Uberlândia – MG).

Durante a condução do experimento foram adotadas diversas práticas de cuidado que visavam minimizar contaminações e possíveis erros aleatórios, como a manutenção do ambiente de forma organizada, consulta constante da metodologia programada, descontaminação e identificação dos materiais utilizados, além de rigorosa dosagem dos reagentes.

Tomou-se como referência a metodologia de determinação do S disponível descrita por Vitti em 1989 (EMBRAPA, 2009) prevista no livro Métodos de Análises de Enxofre em Solos e Plantas (ALVAREZ V et al., 2001). Esta foi utilizada como referência e então, foram feitas variações em pontos específicos, a fim de se criar tratamentos e avaliar seus possíveis efeitos. Portanto, quando uma variável era alterada, as demais eram mantidas constantes, conforme a descrição de cada tratamento.

2.1 Extração e dosagem de S

Seguindo-se a metodologia oficial sem qualquer alteração, foram medidas amostras de 10 g de terra fina seca ao ar (TFSA), a partir de um Argissolo Vermelho Amarelo cujo atributos estão descritos na Tabela 1.

Foi adicionada uma medida de 0,30 g de carvão ativado e 25 ml do extrator ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, 500 mg/L P, em HOAc 2 mol/L). Em seguida, cada amostra foi agitada por 45 min (em mesa agitadora), deixada em repouso por 5 min e filtrada em papel de filtração lenta (tipo Whatman 42). Nas mesmas condições de extração foi feita uma prova em branco, onde não houve adição de solo.

Foi realizada a pipetagem de 10 ml do extrato (produto da filtragem), adicionado 1 ml das sementes de S (solução-padrão 15 mg/L de S) e 4 ml do reagente de trabalho (RT).

O RT foi preparado por meio da dissolução de 62,5 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,625 g de goma-arábica; 88 ml de NH_4OH (2,6 mol/L), completo com água destilada até preencher os 500 ml do balão volumétrico e filtrado com papel de filtração lenta (tipo Whatman 42). Em sequência, foi realizada a agitação (em agitador de tubos de ensaio) até a homogeneização da suspensão (30 s). Foi aguardado 10 min para a completa formação da turbidez e agitado novamente (30 s) antes de realizar a leitura em espectrofotômetro, modelo Instrutherm Digital Mod. UV-2000 A., após aguardar o tempo de estabilização do mesmo.

A dosagem analítica foi realizada a 420 nm em cubetas de 1,0 cm de largura durante 50 a 60 min, a depender do tratamento, tendo sido realizada coleta dos resultados em transmitância, a cada 5 min.

Tabela 1 - Características químicas e física do solo utilizado (Padrão B – LABAS)

Solo	pH	P	K	Ca	Mg	Al ³⁺	H+Al	SB	t	T	V	m	MO	P-rem	Argila
	H ₂ O	--mg dm ⁻³ --		-----mol.dm ⁻³ -----						--%--	dag kg ⁻¹		mg L ⁻¹	g kg ⁻¹	
PB	5,89	3,80	30,00	4,35	1,31	0,00	4,00	5,75	5,75	9,75	59	0	5,85	23,60	450

PB: Argissolo Padrão B LABAS

2.2 Efeito de Cubeta

A partir da metodologia descrita, foram executados protocolos, cada um contendo seus respectivos tratamentos.

Objetivando-se avaliar o efeito de cubeta na leitura do espectrofotômetro (absorbância) foram definidos 4 tratamentos, denominados Cubeta 1; Cubeta 2; Cubeta 3; Cubeta 4 e adotadas 3 repetições.

Com isto, foram adicionadas misturas na proporção de 1:1 da amostra contendo solo e da amostra em branco (não contendo solo). As amostras foram levadas ao espectrofotômetro em 4 cubetas diferentes, sendo estas, de quartzo, nunca antes utilizadas e todas de mesmo modelo e marca; em seguida foram realizadas leituras de suas transmitâncias em um único tempo, 3 min após a última agitação.

2.3 Efeito de Filtragem

A fim de avaliar o efeito da filtragem na estabilidade do extrato foram realizados 2 tratamentos, denominados Filtragem; Sem Filtragem e adotadas 4 repetições.

A metodologia previa a filtragem do RT e do extrato, no primeiro tratamento seguiu-se as instruções do método, realizando as filtrações e no segundo não foi realizada nenhuma das filtrações. Após 30 min de adição das amostras nas cubetas foi feita uma avaliação visual de decantação.

2.4 Efeito de Agitação

Com o intuito de avaliar o efeito de Agitação na leitura do espectrofotômetro (absorbância) foram realizados 4 tratamentos, denominados Adequada Branco; Adequada Solo; Inadequada Branco; Inadequada Solo e adotadas 3 repetições para cada tratamento.

Conforme descrito anteriormente, após a adição do RT, as amostras deveriam ser agitadas em agitador de tubos de ensaio durante 30 s, repousar por 10 min e serem agitadas novamente por 30 s, 3 min antes de realizar a leitura em espectrofotômetro. No tratamento com agitação adequada seguiu-se este protocolo e nos demais, foi feita uma

agitação manual durante 10 s, 3 min antes de realizar a leitura em espectrofotômetro. Com isto, foram coletados os valores de transmitância, tanto para as amostras contendo solo, quanto para as amostras em branco, durante 60 min, com intervalos de 5 min. Foram denominadas adequadas as amostras agitadas com agitador de tubos de ensaio e inadequadas as amostras agitadas manualmente.

2.5 Efeito de Armazenamento da solução NH₄OH

Com o objetivo de avaliar o efeito de Armazenamento da solução de NH₄OH (2,6 mol/L) na leitura do espectrofotômetro (absorbância) foram realizados 4 tratamentos, denominados 0 Dia Branco; 0 Dia Solo; 7 Dias Branco; 7 Dias Solo e adotadas 3 repetições para cada tratamento.

Na composição do RT é feita a adição de NH₄OH (2,6 mol/L), este é obtido por meio da diluição de NH₄OH com concentração superior e armazenagem do mesmo em balão volumétrico, até sua utilização. A metodologia descrita no livro Métodos de Análises de Enxofre em Solos e Plantas (ALVAREZ V et al., 2001) prevê que este armazenamento pode ser feito por até uma semana (7 d). Com isto, foram feitos dois tratamentos, um com a diluição do NH₄OH e utilização imediata (tempo <10 min), denominado 0 Dia e outro com a diluição e utilização após 7 d. Conforme as demais instruções, as amostras foram levadas ao espectrofotômetro e foram coletados os valores de transmitância, tanto para as amostras contendo solo, quanto para as amostras em branco, durante 60 min, com intervalos de 5 min.

2.6 Efeito de Erro do Equipamento

A fim de identificar possível efeito de erro do equipamento (Espectrofotômetro Instrutherm Digital Mod. UV-2000 A) na leitura da absorbância foi definido 1 tratamento contendo 3 repetições, denominado Água U. P.. Este foi executado de forma a adicionar Água Ultra Pura (U. P.) à cubeta e realizar leitura dos valores de transmitância ao longo de 50 min, com intervalo de 5 min.

2.7 Efeito de Imprecisão da Dosagem

Na metodologia não se prevê a forma de dosagem dos reagentes líquidos e sólidos, porém como prática do LABAS, os reagentes líquidos, quando dosados para volumes inferiores à 10 ml, são dosados com o uso de Micropipetadores corretamente calibrados em balança de precisão; quando para volumes superiores à 10 ml, são utilizadas provetas e (ou) balões volumétricos também recalibrados; já no caso de reagentes sólidos, é utilizada balança de precisão com 3 casas decimais.

Buscando isolar fontes de imprecisão promovidas por estes equipamentos, foram adotadas 3 repetições para cada um dos 2 tratamentos; o primeiro tratamento (Pipetagem) seguiu a forma de dosagem adotada pelo LABAS e o segundo (Pesagem) realizou tanto a dosagem de reagentes líquidos, quanto a de reagentes sólidos por meio da balança de precisão. A dosagem de reagentes líquidos por meio da balança foi feita de forma a repetir o primeiro valor (massa) medido correspondente ao volume desejado, portanto nas demais repetições, todos os reagentes líquidos foram pesados e apresentaram massa equivalente ao primeiro ($\pm 0,01$ g). Os demais passos da metodologia foram seguidos conforme previsto e então as amostras foram levadas ao espectrofotômetro e foram coletados os valores de transmitância para as amostras contendo solo, durante 50 min, com intervalos de 5 min.

Além disto, a fim de conhecer a amplitude da imprecisão promovida pela dosagem com uso dos micropipetadores disponíveis no LABAS, foi feita uma pesagem de amostras do RT, com o uso do mesmo micropipetador, calibrado para o mesmo volume (4 ml), em um segundo momento, foram feitas pesagens, buscando atingir a massa de 4,355 g, sendo este correspondente ao volume de 4 ml do RT; adotando 4 repetições.

2.8 Efeito de Isolamento da Cubeta

A fim de compreender se o isolamento das cubetas poderia afetar a leitura do espectrofotômetro (absorbância) foram realizados 4 tratamentos, denominados Aberto Branco; Aberto Solo; Fechado Branco; Fechado Solo e adotadas 3 repetições para cada tratamento.

Devido ao efeito volátil do RT, promovido pela adição do NH_4OH , criou-se 2 tratamentos em que, seguindo todas as demais instruções fornecidas no método, quando as amostras foram transferidas para as cubetas, no primeiro tratamento, as mesmas foram deixadas destampadas (expostas ao meio); no segundo tratamento, fez-se o isolamento da cubeta, tampando-a com tampa plástica própria do material e fixando-a com fita adesiva. Em seguida foram coletados os valores de transmitância no espectrofotômetro, tanto para as amostras contendo solo, quanto para as amostras em branco, durante 50 min, com intervalos de 5 min.

2.9 Metodologia complementar

Tendo executado todos os tratamentos, os valores coletados, quando medidos em transmitância (%T), foram convertidos para absorbância (A) por meio da seguinte fórmula, $A = 2 - \log_{10} \%T$.

Em alguns resultados as amostras foram expressas como Método, o que se traduz na média dos valores encontrados para amostras feitas com Solo e amostras em Branco.

Além disto, em alguns resultados, foi adotado um procedimento de tratamento dos dados afim de melhorar a visualização do comportamento da oscilação da absorbância ao longo do tempo. Este procedimento foi denominado normalização e foi feito de forma que os valores de transmitância no tempo 0 foram convertidos para 100 e os valores dos demais tempos foram corrigidos na mesma proporção, em seguida os mesmos foram convertidos para absorbância. Sabendo que quando a %T é igual a 100, a A é 0, tem-se que, quando os valores foram expressos de forma normalizada, o intercepto foi desconsiderado.

Como será exposto, nenhum dos resultados de Absorbância foram correlacionados à valores de concentração de S, isto porque este é um estudo de imprecisão do método e a correlação destes valores poderia acarretar falsas interpretações da concentração deste nutriente no solo analisado.

Fonte: Autor



Figura 1 – Foto ilustrativa do ambiente de trabalho, materiais utilizados e preparo de amostras

3 RESULTADOS

Assim como na execução, a obtenção dos resultados foi feita de forma fragmentada, de acordo com o protocolo seguido e a variável estudada.

3.1 Efeito de Cubeta

O efeito do uso de diferentes cubetas, com solução de solo e branco na proporção 1:1, na leitura do aparelho (Abs) pode ser observado na Tabela 2. Verificou-se expressiva variação nos valores médios de Abs, com destaque para as cubetas 2 e 3.

Tabela 2 - Efeito de diferentes cubetas sobre os valores de absorbância em solução de mistura de solo e branco (1:1) lidas em espectrofotômetro.

Cubeta	Absorbância			
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Média
1	-0,0013	-0,0013	-0,0013	-0,0013
2	0,0000	0,0000	0,0004	0,0001
3	-0,0013	-0,0017	-0,0013	-0,0014
4	-0,0013	-0,0013	-0,0013	-0,0013

3.2 Efeito de Filtragem

O resultado visual do tratamento em que foi feita filtragem conforme previsto na metodologia pode ser observado na Figura 2 e do tratamento em que não foi realizada filtragem pode ser visto na Figura 3. Na Figura 4, observa-se o resultado de todas as repetições do tratamento Filtragem.

Diante disto, observamos que o tratamento em que foi feita a filtragem, não apresentou sinais de decantação após 30 min em nenhuma de suas repetições. Por sua vez o tratamento em que não houve filtragem do RT e do extrato, apresentou, visualmente, precipitação e decantação em sua solução.

Fonte: Autor

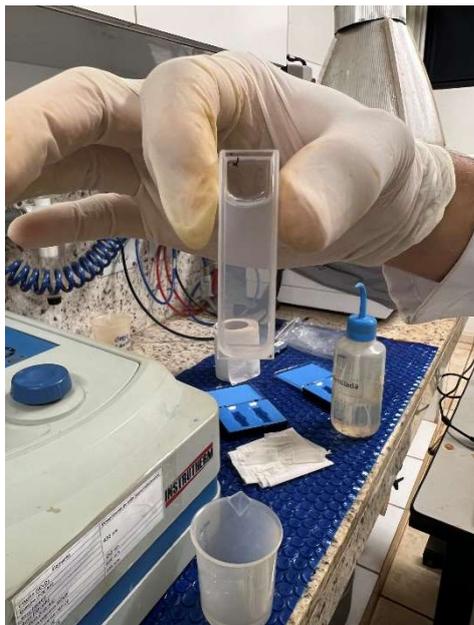


Figura 2 – Cubeta contendo solução em que foi realizada filtragem do RT e extrato.

Fonte: Autor



Figura 3 – Cubeta contendo solução em que não foi realizada filtragem do RT e extrato.

Fonte: Autor



Figura 4 – Cubetas contendo solução em que foi realizada filtragem do RT e extrato.

3.3 Efeito de Agitação

O efeito de tipo de agitação na absorbância pode ser verificado para amostra branco (Figura 5) e no extrato de solo (Figura 6). A fim de preservar a escala, nos tratamentos em que foram medidas as médias da absorbância em cada tempo, foi adotada escala máxima do eixo Y (absorbância) em 0,07; assim, possibilita-se melhor comparação de tratamentos.

Conforme apresentado nas Figuras 5 e 6, os tratamentos de Agitação Adequada e Inadequada apresentaram comportamento similar na absorbância ao longo do tempo, notando uma sobreposição dos pontos; observa-se ainda que o comportamento das

amostras em Branco e do Solo são semelhantes. Apesar disto para todos os tratamentos houve aumento da absorbância ao longo do tempo.

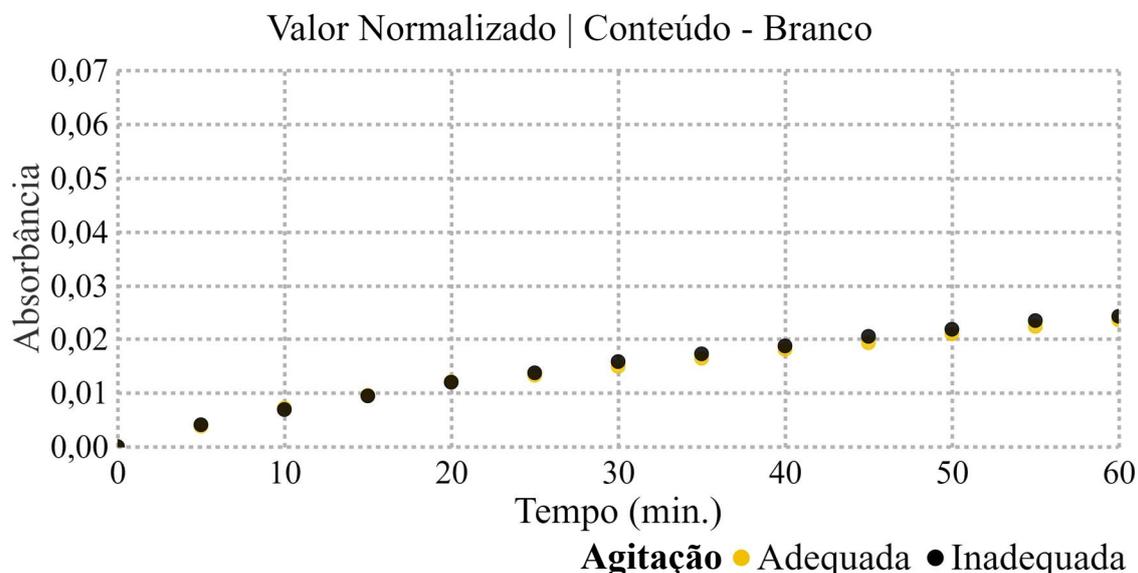


Figura 5 – Efeito da Agitação na Absorbância ao longo do Tempo

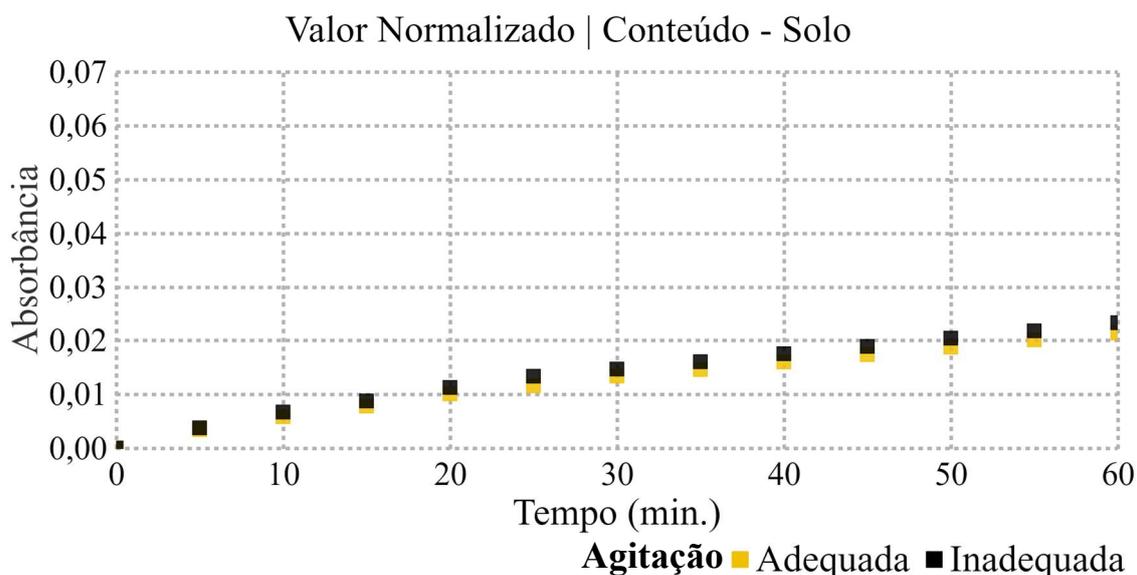


Figura 6 – Efeito da Agitação na Absorbância ao longo do Tempo

3.4 Efeito de Armazenamento da solução NH_4OH

O tempo de armazenamento da solução de NH_4OH afeta os valores de absorbância, como pode ser verificado na Figura 7 para a solução Branco e na Figura 8 para o extrato de solo.

Diante disto, percebe-se que quando realizado o preparo de soluções que utilizaram NH_4OH armazenado por 7 d obteve-se um maior aumento da absorbância no decorrer do tempo em comparação à quando se utilizou NH_4OH armazenado por 0 d.

Além disto, o comportamento das soluções Branco e contendo Solo são semelhantes para ambos os tratamentos. Ressalta-se ainda que para todos os 4 tratamentos foram notados aumento da absorbância ao longo do tempo.

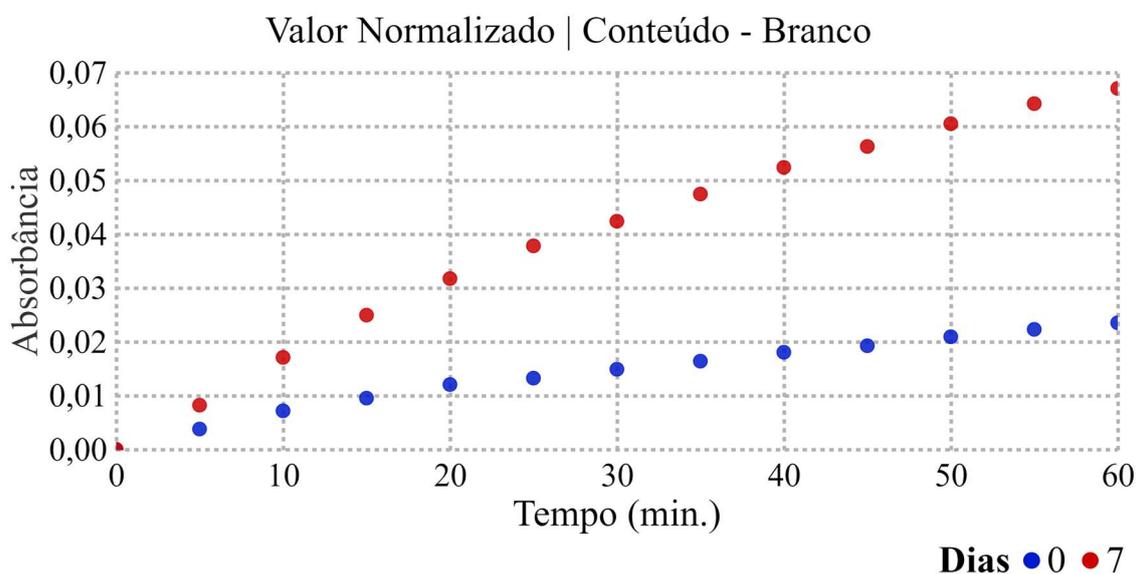


Figura 7 – Efeito da Armazenamento do NH_4OH na Absorbância ao longo do Tempo

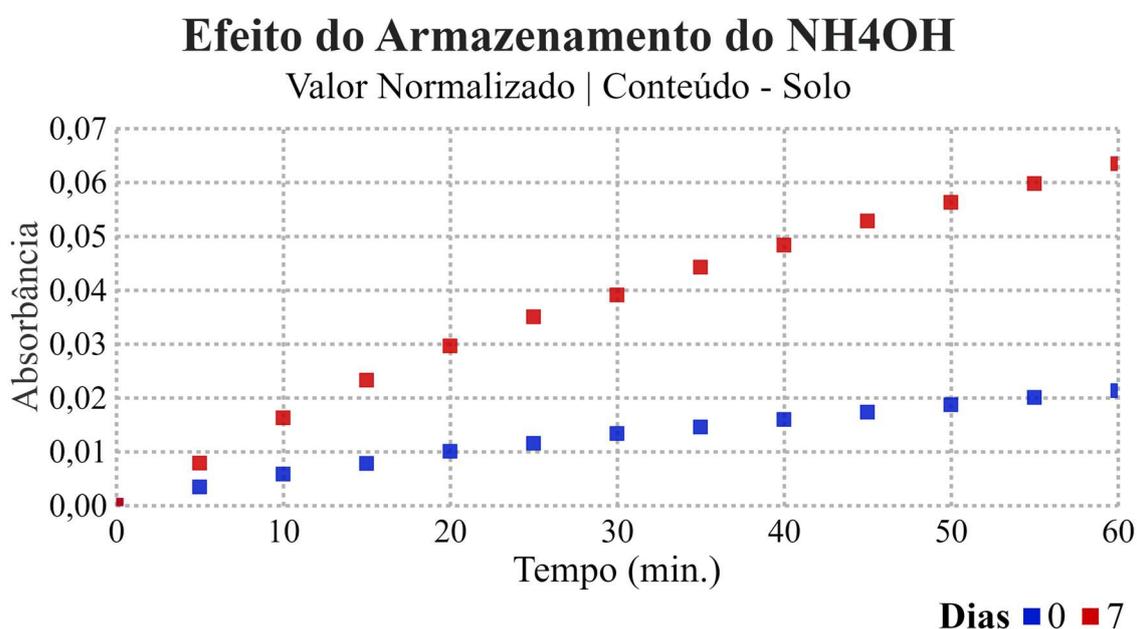


Figura 8 – Efeito da Armazenamento do NH_4OH na Absorbância ao longo do Tempo

3.5 Efeito de Erro do Equipamento

Na Figura 9 podem ser observados 3 Tratamentos, em verde, a Água Ultra Pura, sendo que seu comportamento representa o efeito de erro do equipamento; em azul, o método, média dos valores de branco e solo, sendo estes preparados com NH_4OH

armazenado por 7 d e em vermelho, o método, média dos valores de branco e solo, preparados com NH_4OH (2,6 mol/L) armazenado por 0 dia.

Diante dos dados apresentados na Figura 9, é percebido que, como se trata do aumento dos valores de absorvância em cada intervalo de tempo, o Método – 7 dias obteve o maior aumento em todos os tempos, sendo o tratamento com maior imprecisão. Percebe-se ainda, que o aumento da absorvância nos tempos iniciais (até 30 min) são superiores aos aumentos de tempos maiores que 30 min; demonstrando uma tendência de redução do aumento da absorvância ao longo do tempo.

O Método – 0 dia obteve valores de aumento da absorvância intermediários aos demais tratamentos, apresentando as mesmas características do anterior, aumento da absorvância em todos os tempos e tendência de redução deste aumento ao longo do tempo. Ressalta-se ainda que, após 25 min os valores se aproximaram e apresentaram comportamento semelhante ao da Água U. P., que representa o erro do equipamento.

Por fim, o comportamento da Água U. P. foi de aumento de absorvância em todos os tempos, mantendo um aumento próximo ao constante, com exceção do último tempo medido (50 min), que foi inferior aos demais.

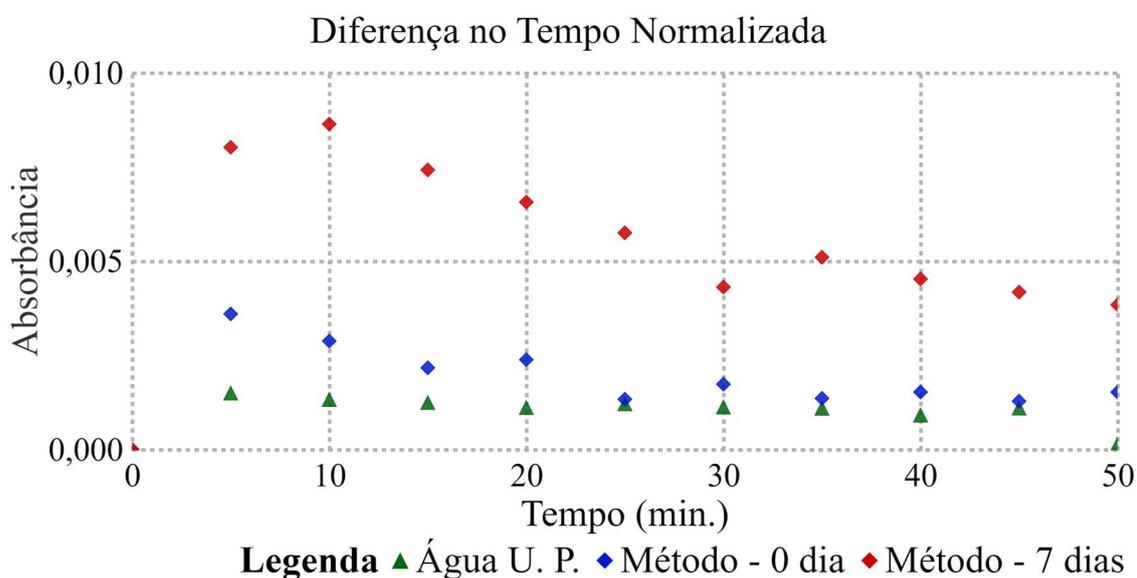


Figura 9 – Aumento da Absorvância por Intervalo de Tempo em diferentes Tratamentos

3.6 Efeito da Qualidade do Armazenamento do NH_4OH

Diferente das Figuras 7 e 8, no qual foram apresentados valores médios de absorvância, separando as amostras que continham solo e em branco; a Figura 10 apresenta todas as repetições dos tratamentos contendo soluções preparadas com NH_4OH armazenado por 0 e 7 d; não distinguindo as que continham solo das branco.

Com isto, temos que, em todos os tratamentos e repetições foram observados aumento da absorbância ao longo do tempo.

As repetições do tratamento 0 Dia tiveram comportamentos semelhantes entre si, já as repetições do tratamento 7 Dias apresentaram comportamentos divergentes, na qual 2 das repetições apresentaram valores próximos aos do tratamento 0 Dia.

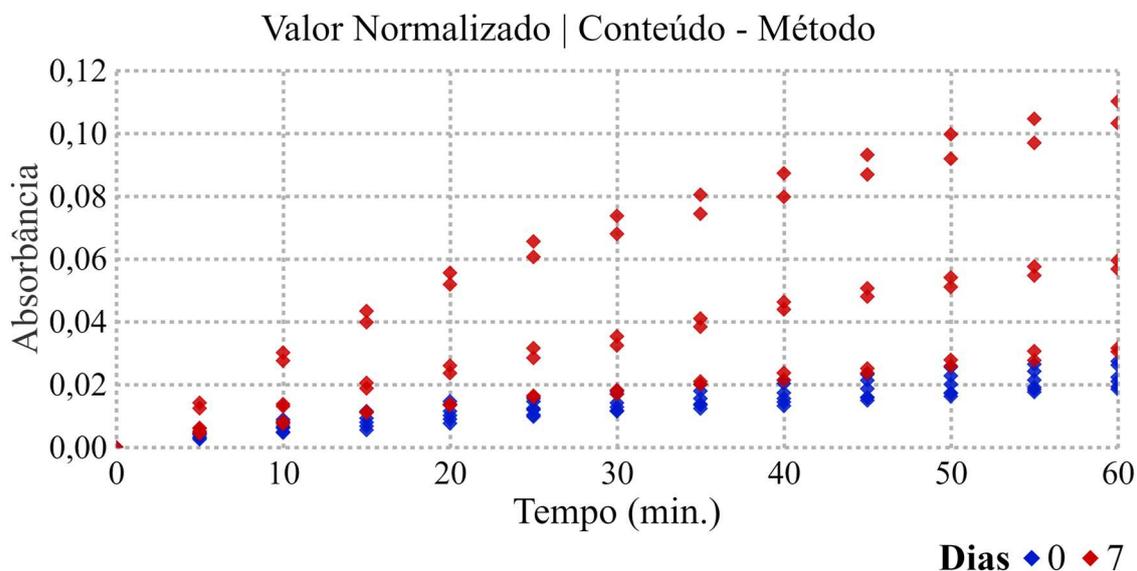


Figura 10 – Efeito da Armazenamento do NH_4OH na Absorbância ao longo do Tempo

3.7 Efeito de Imprecisão da Dosagem

Na Tabela 3 são apresentadas as 4 repetições do peso da dosagem de 4 ml de RT realizadas de duas formas, tratamento denominado Pipetagem, quando os reagentes líquidos foram dosados por volumetria e tratamento denominado Pesagem, quando os reagentes líquidos foram pesados. A amplitude; calculada pelo valor máximo dentre as repetições subtraído ao valor mínimo, dividido pela média, também foi apresentada.

Tem-se que o tratamento Pipetagem apresentou maior Amplitude em relação ao tratamento Pesagem, indicando maior imprecisão da dosagem.

Tabela 3 - Efeito da forma de dosagem de 4 ml de RT na Precisão da mesma

Treatmento	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Amplitude
	----- g -----				%
Pipetagem	4,276	4,409	4,407	4,327	3,1
Pesagem	4,360	4,355	4,357	4,358	0,1

Nas Figura 11 e Figura 12 é notado o efeito desta imprecisão de dosagem nos valores de Absorbância. De forma divergente aos demais gráficos apresentados no trabalho, as Figura 11 e Figura 12 apresentam os valores absolutos de absorbância, sendo

que estes consideram os valores de intercepto e, diferente dos demais, não iniciam com o valor de absorbância 0 no tempo 0. De forma semelhante à Figura 10, os mesmos apresentam os valores das diferentes repetições em cada um dos tratamentos.

Com isto, temos que todas as repetições, dentro do mesmo tratamento, apresentaram comportamento de aumento de absorbância ao longo do tempo, de forma semelhante. Notamos ainda que as repetições do tratamento Pesagem apresentaram maior proximidade dos valores entre si, sendo um tratamento mais preciso que o tratamento Pipetagem.

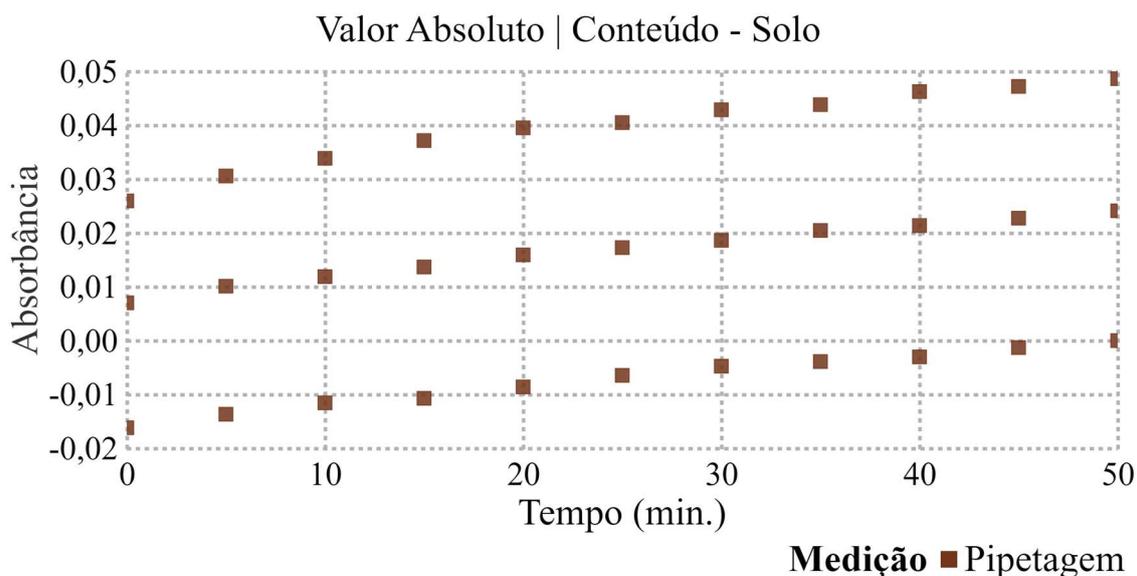


Figura 11 – Efeito da Imprecisão da Dosagem de Reagentes Líquidos na Absorbância

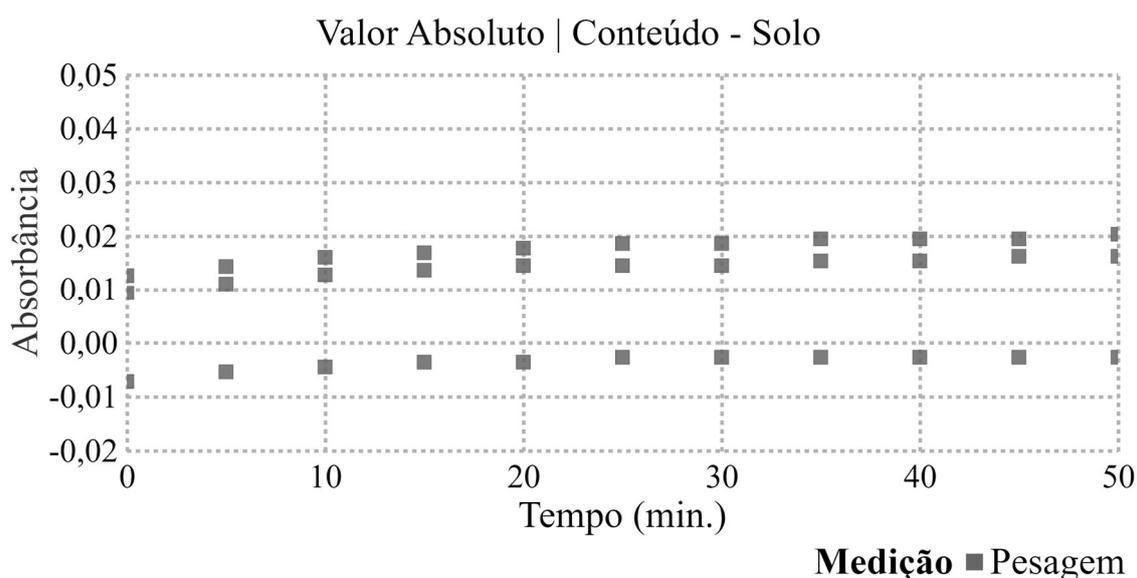


Figura 12 – Efeito da Imprecisão da Dosagem de Reagentes Líquidos na Absorbância

Na Tabela 4, observamos uma análise estatística dos valores de absorbância no tempo de 5 min nas 3 diferentes repetições. Ressalta-se que, para realizar a análise de Coeficiente de Variação (CV), foi necessário aplicar uma constante nos valores coletados

afim de transformar todos os valores, de todas as repetições, em valores maiores ou iguais a 0. Diante dos dados expostos na Tabela 4, observa-se que o tratamento Pipetagem apresentou maiores valores de Amplitude (valor max. – min.); Desvio Padrão (Dp) e CV; com isto nota-se que este tratamento é o que apresenta maior imprecisão.

Tabela 4 - Efeito da forma de dosagem na Precisão da Absorbância

Tratamento	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Amplitude	Dp	CV
----- Absorbância -----						(%)
Pipetagem	0,0443	0,0238	0,0000	0,0443	0,0181	79,7
Pesagem	0,0280	0,0247	0,0083	0,0197	0,0086	42,4

3.8 Efeito de Isolamento da Cubeta

Na Figura 13 são observados os valores de absorbância em função do tempo em dois diferentes tratamentos, no tratamento com a Cubeta Aberta, onde não foi isolado o conteúdo da cubeta do meio, e no tratamento com a Cubeta Fechada, onde foi isolada a solução do meio, pela colocação de tampas nas mesmas. Nota-se ainda que assim como na Figura 10, foram dados os valores do Método, média da amostra que continha solo e branco.

Com os dados apresentados na Figura 13, pode ser observado que tanto o tratamento Aberta, quanto o Fechada, apresentaram aumento da absorbância ao longo do tempo, demonstrando comportamentos semelhantes entre si, observando, portanto, a sobreposição dos pontos (valores).

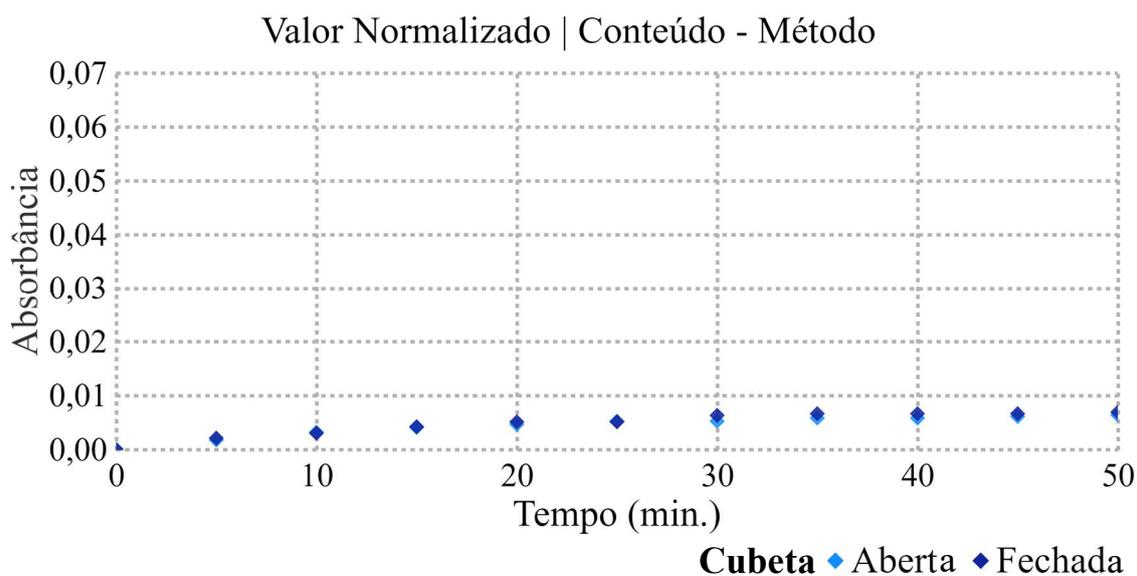


Figura 13 – Efeito do Isolamento da Cubeta na Absorbância ao longo do tempo

4 DISCUSSÃO

A partir dos dados exploratórios do efeito de diferentes fontes de variação nos valores de absorvância para a dosagem turbidimétrica de S, seguindo metodologia oficial para o Estado de Minas Gerais (PROFERT), em espectrofotômetro Instrutherm Digital Mod. UV-2000 A, foi possível levantar hipóteses de causas prováveis de imprecisões que podem fomentar novas pesquisas, mais conclusivas.

Com base nos dados apresentados, mesmo notando diferença na absorvância com o uso diferentes cubetas, compreende-se que esta é pouco relevante, pois comparado aos valores de absorvância encontrados em soluções contendo solo com baixo teor de S, a ordem de grandeza desta variação não influencia a dosagem de forma expressiva. Isto se deve ao fato de as cubetas utilizadas serem novas e de alta qualidade, com baixa desuniformidade na espessura da parede do material ou contaminação com substâncias capazes de afetar interações ópticas. Apesar disto, o presente trabalho não estudou o uso de cubetas de diferentes marcas, grau de uso, material ou modelo e por isto recomenda que sejam feitos estudos apropriados para que se entenda o grau de impacto na precisão que pode ser promovido pelo uso de materiais com tais atributos.

Quando analisado o impacto da filtração do extrato e RT, mesmo não tendo sido avaliada a diferença de absorvância, diferenças visuais contrastantes de turbidez entre extratos filtrados e não filtrados foram suficientes para se reforçar a necessidade de filtração dos referidos extratos.

O equivalente efeito da agitação manual frente a agitação mecânica sugere suficiência da agitação manual na suspensão das partículas. Na verdade, a resistência do meio (devido a viscosidade) descrita pela lei de Stokes e movimento Browniano devido a formação de sistema coloidal sol, sugere baixa demanda energética para manutenção de homogeneidade da suspensão. Porém, como no tratamento dos dados desconsiderou-se os interceptos, não foi possível analisar o impacto desta varável no tempo 0. Portanto, recomenda-se que sejam feitos novos estudos que abranjam esta análise, tendo em vista que a má uniformização da suspensão incrementará a variabilidade analítica.

A imprecisão acarretada pelo uso de NH_4OH pode ser justificada pelo fato de o pH da solução ter influência na velocidade da formação da turbidez, sendo esta dada pela formação de sulfato de bário. Como o NH_4OH é um reagente volátil, levanta-se a hipótese de que o tempo de armazenagem acarretou maior volatilização e conseqüentemente em alteração de seu pH. Com esta mudança de pH, a velocidade de formação de turbidez foi reduzida, tendo sido expressa na forma de aumento da absorvância ao longo do tempo monitorado.

Tal comportamento é reforçado com o aumento da absorvência por intervalo de tempo, que é menor com a solução que possui tempo inferior de armazenamento, demonstrando que a maior parte do sulfato de bário já havia sido formado antes da primeira leitura. Além disto, as reduções dos aumentos são menores no tratamento Método – 0 dia e, o mesmo, após 25 min, apresenta valores que se aproximam ao da Água U. P., que representa o erro do equipamento. Indicando assim que não havia mais formação de sulfato de bário, apenas efeito de erro do equipamento.

Tendo em vista o impacto na precisão do método causado por esta variável, recomenda-se que novos estudos sejam feitos analisando o pH da solução e velocidade da formação de turbidez. Além disto, destaca-se uma possível influência do teor de argila na velocidade da mesma, devido a seu poder tampão; por isto recomenda-se que esta seja uma variável seja estudada em conjunto.

Observando a imprecisão da absorvência dos extratos que utilizaram NH_4OH 7 d, é entendido que não apenas o tempo de armazenamento, mas também sua qualidade, são variáveis relevantes na volatilização do NH_4OH e conseqüentemente na velocidade de formação da turbidez, que afetará diretamente a precisão do método. Com isto indica-se que seja acessada literatura disponível sobre armazenamento de reagentes voláteis e seja seguida as orientações previstas para que esta não seja uma fonte de imprecisão do método.

Foi constatado que o espectrofotômetro Instrutherm Digital Mod. UV-2000 A, pertencente ao LABAS, utilizado no período de março a junho de 2023 apresentou efeito de aumento na absorção no decorrer do tempo estudado. Apesar deste efeito ser, em média, a cada 5 min, similar ao efeito do uso de diferentes cubetas, alerta-se para esta variável, pois este é um efeito cumulativo e, a depender do tempo entre a leitura do branco, calibrando o aparelho e da leitura da última amostra, pode se tornar um efeito de grande impacto na precisão do método.

Diante disto, recomenda-se que o aparelho utilizado seja recalibrado e monitorado periodicamente, a fim de impedir que o mesmo seja um promotor de imprecisão. De forma complementar, recomenda-se que após a recalibragem seja feito um levantamento do tempo adequado de aquecimento e estabilização do espectrofotômetro.

O efeito da imprecisão da dosagem, conforme os resultados apresentados, implicou na imprecisão da leitura da absorvência. Apesar de o tratamento, em que os reagentes líquidos foram dosados por meio da pesagem, ter apresentado maior precisão, não se considera a adoção desta prática como rotina de laboratórios, pois é sabido de sua ineficiência operacional, esta apenas foi adotada para fim de pesquisa, tentando isolar esta variável.

Portanto, sabendo desta imprecisão, recomenda-se que novos estudos sejam feitos de forma a compreender melhor quais dos reagentes líquidos, quando dosados de forma imprecisa, promove maior efeito de imprecisão do método. Além disto, também seria interessante a abordagem do estudo, com a descrição dos materiais utilizados para a dosagem de reagentes líquidos, pois existem diferentes qualidades destes materiais; com isto, o estudo poderia utilizar materiais de diferentes graus de sofisticação e gerar recomendações de utilização dos mesmos de acordo com a sensibilidade dos diferentes reagentes.

O equivalente efeito entre o isolamento ou não do meio, demonstra que, se ocorrida, a volatilização após 60 min da mistura de todos os demais reagentes e agitação da amostra não altera seus valores de absorvância de forma a causar uma imprecisão significativa no método.

5 CONCLUSÕES

O efeito da agitação manual sob a absorvância ao longo do tempo acarreta menor imprecisão no método que o efeito do armazenamento do NH_4OH para os mesmos critérios.

Há incidência de Erro do Espectrofotômetro Instrutherm Digital Mod. UV-2000A na dosagem analítica do S por turbidimetria.

A exatidão na tomada de alíquotas ou pesagem de reagentes afeta expressivamente a precisão na dosagem analítica do S.

A variabilidade entre cubetas de quartzo (marca e modelo) não é suficiente para afetar negativamente as leituras de absorvância.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ V, V. H., et al. Métodos de análise de enxofre em solos e plantas. Viçosa: Editora UFV, 2001.
- ANDERSON, J.M. Soil and Plant Analysis for Forest Ecosystem Characterization. *Geoderma*, v.140, n. 1-2, p.106-113, 2005.
- BLOEM, E.; HANAKAM, F.; SCHNUG, E. Significance of Sulphur Compounds in the Protection of Rapeseed Against Fungal Pathogens. *Agronomy Research*, v. 5, n. 2, p. 13–26, 2007.
- BLUM, W.E.H. Functions of soil for society and the environment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v.4, n. 3, p. 75-79, 2005.
- BOLT, G. H.; BRUGGENWERTH, M. G. M. *Soil Chemistry: Basic Elements*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1978.
- BROWN, P. H.; SAA, S. Boron in Plant Biology. *Plant Biology*, v. 51, p. 323–333, 1979.
- BRUNOLD, C.; SCHULZ, M. Control of sulfate reduction by nitrogen nutrition in *Hordeum vulgare* and *Zea mays*. *Journal of Experimental Botany*, v. 46, n. 12, p. 1873–1879, 1995.
- DICKINSON, W. T.; WALLACE, B. B.; SINCLAIR, C. G. Soil Turbidity Measurement by Light Scattering. *Journal of the Soil Science Society of America*, v. 50, n. 2, p. 564–567, 1986.
- EMBRAPA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009.
- EPISTEIN, E. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. New York, NY, USA: John Wiley and Sons, 1972.
- FAO. *The State of the World's Land and Water Resources for Food and Agriculture (SOLAW) - Managing systems at risk*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome and Earthscan, London. 2015.
- HAWKESFORD, M.; HOPKINS, L.; TILSNER, J. Sulphur metabolism in plants: An overview. In: *SULPHUR IN PLANTS*. Dordrecht: Springer, 2012. p. 87–105.
- HORWITZ, W.; CHICHARO, A. A.; REYNOLDS, H.; SMITH, R. L. *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemists, 13th ed., Washington, DC, USA, 1980.
- JONES, J. B.; CASE, V. W. *Sampling, Handling, and Analyzing Plant Tissue Samples*. In *Soil Testing and Plant Analysis*, 3rd ed., SSSA, Madison, WI, USA, 1990.
- KOBAYASHI, Y.; JAMJOD, S.; NISHIZAWA, N. K. Expression of iron-acquisition-related genes in iron-deficient rice is co-ordinately induced by partially conserved iron-deficiency-responsive elements. *Journal of Experimental Botany*, v. 56, n. 415, p. 1305–1316, 2005.

LUND, L.J. Soil Testing and Plant Analysis. SSSA, Madison, WI, USA, 2012.

MARSCHNER, H. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London, UK, 2011.

MCLAUGHLIN, M. J.; HAMON, R. E.; MCLAUGHLIN, M. J.; SMOLDERS, E.; WARTHEN, M. Risk Assessment of Metals in Soil and Vegetables in the Vicinity of a Metallurgical Factory near a Lead.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A.; KOSA, H.; APPLETON, B. Principles of Plant Nutrition. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2001.

ROBERTSON, G.P. GS+: Geostatistics for the Environmental Sciences. Gamma Design Software, Plainwell, MI, USA, 2005.

SCHERER, H. W. Sulphur in Crop Production. European Journal of Agronomy, v. 14, n. 2, p. 81–111, 2001.

TISDALE, S. L.; NELSON, W. L.; BEATON, J. D.; HAVLIN, J. L. Soil Fertility and Fertilizers. 5th ed. New York, NY: Macmillan Publishing Company, 1993.

VAN ECK, R. Precision Agriculture and beyond. D.W. Bierema, Doetinchem, The Netherlands, 2010.

VAN REEUWIJK, L.P. Procedures for Soil Analysis. Technical paper, International Soil Reference and Information Centre, Wageningen, The Netherlands, 2006.