




## C A P Í T U L O 4

# Redução na quantidade de reagentes usados na determinação de fósforo do solo, extraído com Mehlich-1

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.000000000000>

**Francisco de Souza Fadigas**

Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas (CETEC) / Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, Bahia, Brasil

**Oldair Vinhas Costa**

Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) / Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, Bahia, Brasil

**Resumo:** A determinação de fósforo (P) extraído com Mehlich-1 baseia-se na reação entre os íons ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) e o molibdato ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ), na presença de ácido ascórbico, resultando na formação do complexo azul de molibdênio. A intensidade dessa cor azul é diretamente proporcional à concentração de íons fosfato na solução. O objetivo deste estudo foi avaliar duas curvas de calibração para a quantificação de fósforo no solo, utilizando diferentes concentrações de P nos padrões, e investigar o efeito da redução nas quantidades de reagentes empregadas na quantificação do P. O efeito da quantidade de reagentes foi avaliado utilizando os seguintes tratamentos: curva de calibração completa (CC), que incluiu soluções padrão contendo 1, 2, 3 e 4 mg L<sup>-1</sup> de P e a meia curva (MC), contendo padrões de 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de P. Estas curvas padrão (CC e MC) foram combinadas com duas quantidades de reagentes para obtenção da cor na mistura preparada para leitura: uma contendo 2,5 mL da solução padrão, 5,0 mL de solução de molibdato de amônio diluída e 15 mg de ácido ascórbico (MQ), e outra contendo 5 mL da solução padrão, 10 mL de solução de molibdato de amônio diluída e 30 mg de ácido ascórbico (QT). Os tratamentos foram organizados em arranjo fatorial de 2X2, com seis repetições. Adicionalmente, conduziu-se um segundo ensaio com seis amostras de terra de solos representativos dos Tabuleiros Interiores do Recôncavo Baiano, variando quanto ao teor de argila, com o objetivo de avaliar os teores de fósforo (P) extraído do solo em função das quantidades de reagentes utilizadas no preparo das misturas para leitura da absorvância. Nesse caso, os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 6x2, com três repetições. A redução no valor do padrão de maior concentração de P para 2,0 mg L<sup>-1</sup> (MC) mostrou-se adequada nas combinações com MQ e QT,

aumentando a sensibilidade da curva para análise em solos com baixos teores de P. O uso de metade da quantidade dos reagentes (MQ), além de tecnicamente viável, reduz custos de análise e a geração de resíduos. Não foram encontradas diferenças relevantes em relação ao teor de P no solo quando utilizada a quantidade total (QT) de reagentes ou a metade (MQ) destes.

**Palavras-chave:** análise de P; curva de calibração; minimização de resíduos; padrão de calibração.

## Reduction in the amount of reagents used to determine soil phosphorus extracted with Mehlich-1

**Abstract:** The determination of phosphorus (P) extracted with Mehlich-1 is based on the reaction between orthophosphate ions ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) and molybdate ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) in the presence of ascorbic acid, resulting in the formation of a molybdenum blue complex. The intensity of this blue color is directly proportional to the concentration of phosphate ions in the solution. The objective of this study was to evaluate two calibration curves for quantifying phosphorus in soil using different P concentrations in the standards, and to investigate the effect of reducing the quantities of reagents used in the quantification process. The effect of reagent quantity was assessed using the following treatments: a full calibration curve (FC), which included standard solutions containing 1.0, 2.0, 3.0, and 4.0  $\text{mg L}^{-1}$  of P, and a half calibration curve (HC), containing standards of 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0  $\text{mg L}^{-1}$  of P. These standard curves (FC and HC) were combined with two reagent quantities for color development in the prepared mixture: one containing 2.5 mL of the standard solution, 5.0 mL of diluted ammonium molybdate solution, and 15 mg of ascorbic acid (RQ); and another containing 5.0 mL of the standard solution, 10.0 mL of diluted ammonium molybdate solution, and 30 mg of ascorbic acid (FQ). The treatments were arranged in a 2x2 factorial design with six replicates. Additionally, a second experiment was conducted using six soil samples from representative soils of the Inland Tablelands of the Recôncavo Baiano region, varying in clay content, to assess the levels of phosphorus (P) extracted from the soil as a function of the reagent quantities used in the absorbance reading mixtures. In this case, treatments were arranged in a 6x2 factorial design with three replicates. The reduction in the highest P standard concentration to 2.0  $\text{mg L}^{-1}$  (HC) proved suitable in combination with both RQ and FQ, increasing the sensitivity of the curve for analyzing soils with low P levels. Using half the amount of reagents (RQ) was not only technically feasible but also reduced analysis costs and waste generation. No significant differences were found in soil P content when using the full (FQ) or half (RQ) reagent quantities.

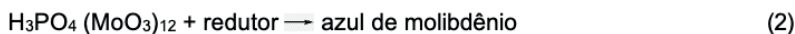
**Keywords:** P analysis; calibration curve; waste minimization, calibration standard.

## 1. INTRODUÇÃO

Com o crescente foco na sustentabilidade e na redução dos impactos ambientais, a análise química enfrenta o desafio de buscar alternativas mais responsáveis no uso dos reagentes químicos. Nesse contexto, torna-se essencial adotar abordagens sustentáveis que minimizem o impacto ambiental e promovam um futuro mais equilibrado (Biotech, 2023). Entre estas abordagens figuram o uso de reagentes verdes, a busca da eficiência energética, o desenvolvimento de tecnologias limpas e a redução na geração de resíduos. Neste sentido, a minimização de resíduos contribui não apenas para a redução de custos com materiais consumíveis, como reagentes químicos utilizados nas análises, mas também para a diminuição dos custos relacionados ao armazenamento e ao tratamento de resíduos laboratoriais (Prado, 2003; CropLife, 2020).

A análise do Fósforo (P) disponível para as plantas no solo tem sido amplamente utilizada na avaliação da fertilidade dos solos, servindo como base para a recomendação de adubação e calagem. Nos laboratórios de análises de solo no Brasil, dois métodos predominam na determinação do P disponível: o método da resina trocadora de ânions (RTA) e o método com o extrator Mehlich-1 (M1). (Ferreira *et al.*, 1990; Raij; Quaggio, 2001; Teixeira *et al.*, 2017; Meneghetti, 2018).

A determinação do P extraído com Mehlich-1 se baseia na reação entre os íons ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) com o molibdato ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) em meio fortemente ácido, o qual é reduzido à azul de molibdênio (equações 1 e 2), cuja intensidade da cor azul formada é proporcional à concentração de íons fosfato presentes na solução (Malavolta; Vitti; Oliveira, 1997; Nogueira *et al.*, 2005; Silva, 2018). Este complexo pode ser quantificado por espectrofotometria na região visível do espectro (UV-VIS) em determinado comprimento de onda (Holler *et al.*, 2009). Na análise por espectrofotometria molecular, as substâncias reagem de forma própria à passagem de um feixe de luz, sendo a absorvidade molar característica de cada uma, a qual indica a quantidade de luz que é absorvida num determinado comprimento de onda (Vogel *et al.*, 2002).



O estudo da absorção de luz por substâncias em solução permite a construção de uma curva de calibração, ou curva padrão, que estabelece a relação entre a leitura instrumental da cor (absorvância) e a concentração do analito na solução (Vogel *et al.*, 2002). Na espectrofotometria, essa curva pode ser descrita por uma equação linear do tipo  $y = ax + b$  (Harris; Barcia, 2012). O coeficiente angular (a) da

curva de calibração obtido por regressão linear reflete a sensibilidade da resposta do analito ao comprimento de onda utilizado, permitindo verificar o tipo de resposta do analito ao comprimento de onda ao qual as soluções padrão coloridas são mais sensíveis. Por sua vez, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) da regressão permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois, quanto mais próximo da unidade, maior a precisão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados (Augusto; Andrade; Custodio, 2018).

Para a construção de uma curva de calibração, uma série de padrões externos com concentrações conhecidas do analito pode ser preparada a partir de três ou mais soluções padrão. A calibração é realizada obtendo-se o sinal de resposta à passagem da luz pela cubeta contendo o padrão em função da concentração conhecida do analito (Skoog *et al.*, 2006). Com o uso da análise de regressão é possível verificar a linearidade da reação e calcular um fator de conversão de valores de absorvância em concentração. Uma vez obtida a curva de calibração e a equação matemática que melhor a descreve, a próxima etapa é aquela em que o sinal de resposta para a amostra é usado para prever a concentração do analito, usando a curva de calibração ou a equação que melhor se ajusta aos pontos do gráfico (Augusto; Andrade; Custodio, 2018).

O método descrito no *Manual de métodos de análise de solo* (Teixeira *et al.*, 2017) recomenda a construção de uma curva de calibração com padrões de concentração fósforo (P) variando de 1 a 4 mg L<sup>-1</sup> de P, para leitura em extratos obtidos com Mehlich-1, em espectrofotômetro de absorção molecular. Um método alternativo propõe concentrações de P variando de 0 a 4 mg L<sup>-1</sup>, com inclusão do padrão 0,5 mg L<sup>-1</sup> (Nogueira *et al.*, 2005). Todavia, outros autores sugerem usar padrões com faixas de concentração diferentes. Meneghetti (2018) e Lana *et al.* (2010) propõem o uso de padrões de 0,0 a 2,0 mg L<sup>-1</sup> de P, enquanto Sá e Guedes (2023) recomendam a adoção de padrões de calibração variando de 0 a 1,6 mg L<sup>-1</sup> de P, para leitura em extratos de Mehlich-1, na relação solo: extrator 1:10. Em outro método alternativo, Tedesco *et al.* (1995) recomendam obter a curva de calibração a partir dos padrões variando de 0,0 a 5,0 mg L<sup>-1</sup> de P. A redução no valor máximo de concentração na curva de calibração é particularmente adequada para análises de solos com baixos teores de P disponível.

As quantidades de reagentes utilizadas na obtenção do extrato e da solução colorida para efetuar leitura no espectrofotômetro também varia de acordo com a fonte que descreve o método. A maioria dos autores recomenda a proporção solo: extrator de 1:10, que é obtida agitando-se 5 cm<sup>3</sup> de solo com 50 mL do extrator Mehlich-1. Para o preparo das soluções destinadas à leitura (quantificação do P), sugere-se pipetar 5 mL do líquido sobrenadante (após a decantação) e adicionar 10 mL de solução de molibdato de amônio diluída, resultando em um volume total de 15 mL da mistura.

Quanto ao uso do ácido ascórbico, as recomendações variam significativamente, indo desde uma “pitada” até uma “quantidade calibrada” de aproximadamente 30 mg de ácido ascórbico em pó (Vetori, 1969; EMBRAPA, 1979; Silva, 2009; Donagema, 2011; Raposo, 2014; Silva, 2018). Por outro lado, um método alternativo que também utiliza o Mehlich-1 para a extração de fósforo (P) propõe pipetar 2 mL do sobrenadante em tubos de ensaio de 30 mL, adicionando em seguida 6 mL do Reagente de Trabalho (RT) e 2 mL de água destilada (Meneghetti, 2018). O *Manual de Rotina* (Sá; Guedes, 2023) recomenda pipetar 5,0 mL do líquido sobrenadante (extrato de solo) e adicionar 5,0 mL do Reagente de Trabalho (RT), composto por 0,0080 g de ácido ascórbico e 1,0 mL de solução 725 para cada 5,0 mL, perfazendo um volume total de 10 mL da solução preparada para leitura.

O objetivo desta pesquisa foi investigar duas curvas de calibração para a quantificação de fósforo (P) no solo, utilizando diferentes concentrações de P nos padrões, além de avaliar o impacto da redução das quantidades de reagentes empregados na análise, em comparação com o método descrito por Teixeira *et al.* (2017).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

As soluções padrão de P foram preparadas segundo orientações contidas no *Manual de métodos de análise de solo* (Teixeira *et al.*, 2017) a partir de uma solução contendo 50 mg L<sup>-1</sup> de P. Foi utilizada água deionizada tipo II (condutividade elétrica < 1 µS cm<sup>-1</sup>) no preparo das soluções e as vidrarias foram rigorosamente limpas, por meio de lavagem com detergente neutro, seguida por três enxagues com água potável e dois com água deionizada. As misturas foram preparadas em tubo de ensaio de vidro com capacidade para 15 mL, com tampa rosqueada e, em seguida, para efetuar as leituras no espectrofotômetro, as soluções foram transferidas para cubetas vidro de 3,5 mL, com caminho ótico de 10 mm. As leituras foram efetuadas entre 30 e 60 min após a adição do ácido ascórbico, quando apresentavam a coloração definitiva (Santos; Silva; Griebeler, 2014; Silva, 2018). Na obtenção das curvas de calibração, as leituras de absorvância foram feitas a 660nm, em espectrofotômetro UV-VIS. O ajuste do zero do aparelho foi obtido com a solução em branco, contendo extrator Mehlich-1 (HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025 mol L<sup>-1</sup>), molibdato de amônio diluído e ácido ascórbico (Teixeira *et al.*, 2017).

## 2.1 Efeito da alteração no intervalo de concentração dos padrões de P sobre a qualidade da curva de calibração

Com o objetivo de avaliar o efeito da quantidade de reagentes sobre a qualidade da curva de calibração foram utilizados os seguintes tratamentos: curva de calibração completa (CC), representada pelas soluções padrão, contendo 1, 2, 3 e 4 mg L<sup>-1</sup> de P e a meia curva (MC), contendo padrões de 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de P. Estas curvas padrão (CC e MC) foram combinadas com duas quantidades de reagentes para obtenção da cor na mistura preparada para leitura: uma contendo 2,5 mL da solução padrão + 5,0 mL de solução de molibdato de amônio diluída + 15 mg de ácido ascórbico (MQ), ou seja, metade das quantidades recomendadas pelo método (Teixeira *et al.*, 2017) e outra contendo 5 mL da solução padrão + 10 mL de solução de molibdato de amônio diluída + 30 mg de ácido ascórbico (QT), equivalente à quantidade total recomendada no método. Os tratamentos foram organizados em arranjo fatorial de 2x2. As soluções padrão foram preparadas em número de três conjuntos, tanto para a CC, como para a MC, e as medidas de absorvância para obtenção das curvas de calibração foram realizadas em duplicata, totalizando 6 repetições para cada ponto da curva. O limite de detecção do método (LD) foi calculado com base nas leituras das absorvâncias dos brancos (b), usando a expressão “b + 3s” (Thompson *et al.*, 2002).

As absorvâncias medidas foram plotadas em gráficos em função dos teores de P nos padrões (mg L<sup>-1</sup>). As curvas resultantes foram descritas por funções lineares do tipo  $y = ax + b$ , em que  $b = 0$  (coeficiente linear) e  $a$  é um valor positivo (reta crescente), representando a inclinação da reta.

Os valores de absorvância e os coeficientes angulares ( $a$ ), obtidos graficamente, a partir das equações geradas no Excel (Microsoft Corporation, 2024), foram submetidos à análise de variância utilizando o software Statistica v.7 (StatSoft, 2004) para verificar a existência de diferenças estatísticas entre as curvas.

Os valores de absorvância dos padrões obtidos com as quantidades de reagentes QT e MQ, dentro de cada curva de calibração (CC e MC), foram comparados graficamente, gerando curvas de regressão e coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) para cada caso, com uso da planilha eletrônica Excel, do pacote Office 365 (Microsoft Corporation, 2024).

## 2.2 Influência da quantidade de reagentes na quantificação do P em amostras de solo

Para avaliar o teor de P disponibilizado no extrato do solo, em função das diferentes quantidades de reagentes utilizados no preparo das misturas para leitura da absorvância, foi realizado um experimento com seis amostras de diferentes solos representativos dos Tabuleiros Interiores do Recôncavo Baiano. As amostras foram coletadas na profundidade de 0 a 20 cm e apresentavam diferentes teores de argila, dada a sua influência sobre a capacidade de extração do extrator Mehlich-1 (Tedesco *et al.*, 1995), além de variações nos teores de P disponível. Os solos analisados foram: Cambissolo Háplico Ta Eutrófico leptofragmentário (CXve); Cambissolo Háplico Distrófico petroplúntico (CXbd); Argissolo Amarelo Distrófico típico (PAdx); Argissolo Acinzentado Distrocoeso típico (PACdx); Latossolo Amarelo Distrocoeso argissólico (LAdx2); Latossolo Amarelo Distrocoeso típico (LAdx1). Quatro das amostras foram coletadas em área da UFRB e compõe uma topossequência situada às margens de uma das estradas de acesso ao açude, de área denominada cascalheira. Outras duas foram coletadas no NEAS (Núcleo de Engenharia de Água e Solo) e em área próxima da Escola Joaquim Medeiros. Nas Tabelas 1 e 2 são apresentadas algumas características físicas e químicas destes solos.

**Tabela 1.** Localização, composição granulométrica e teor de Carbono (COrg) dos solos utilizados no estudo na camada de 0 a 20 cm de profundidade

Solo	Localização		Granulometria (g Kg <sup>-1</sup> )			C <sub>Org</sub> (g kg <sup>-1</sup> )
	(Coordenadas Geográficas)		Argila	Silte	Areia	
CXve	S 12°39'38,7"	W 039°04'41,3"	173	187	640	11,0
CXbd	S 12°39' 40,5"	W 039°04'42,3"	468	103	429	12,8
PAdx	S 12°39'41,1"	W 039°04'43,0"	427	89	484	12,6
PACdx	S 12°39'42,1"	W 039°05'37,1"	191	128	681	10,8
LAdx2	S 12°39'42,4"	W 039°04'42,4"	243	118	639	13,0
LAdx1	S 12°39'19,5	W 039°05'18,6"	283	72	645	6,0

Autor: Francisco Fadigas

**Tabela 2.** Resultados das análises químicas dos solos utilizados no estudo

Característica química	Amostra de solo					
	CXve	CXbd	PAdx	PACdx	LAdx2	LAdx1
pH (H <sub>2</sub> O)	4,3	4,5	4,3	4,6	5,2	4,4
P (mg dm <sup>-3</sup> )	4,0	5,0	3,0	3,0	5,0	2,0
K (cmolc dm <sup>-3</sup> )	0,2	0,18	0,20	0,12	0,14	0,04
Ca (cmolc dm <sup>-3</sup> )	1,06	0,94	0,71	0,88	2,36	0,30
Mg (cmolc dm <sup>-3</sup> )	0,90	0,64	0,58	0,50	0,90	0,18
Ca+ Mg (cmolc dm <sup>-3</sup> )	1,96	1,57	1,30	1,38	3,26	0,48
Al (cmolc dm <sup>-3</sup> )	1,2	1,0	1,5	0,7	0,2	0,9
Na (cmolc dm <sup>-3</sup> )	0,05	0,03	0,05	0,04	0,02	0,03
Al + H (cmolc dm <sup>-3</sup> )	4,17	3,96	4,15	3,41	2,88	2,16
SB <sup>1</sup> (cmolc dm <sup>-3</sup> )	2,21	1,78	1,55	1,54	3,42	0,55
CTC <sup>2</sup> (cmolc dm <sup>-3</sup> )	6,38	5,74	5,69	4,95	6,30	2,70
V <sup>3</sup> (%)	35	31	27	31	54	20
MO <sup>4</sup> (g kg <sup>-1</sup> )	12,7	13,0	13,8	14,0	19,3	9,3

Autor: Francisco Fadigas

Nota: <sup>1</sup>SB - soma de bases; <sup>2</sup>CTC – capacidade de troca de cátions; <sup>3</sup>V – saturação por bases;

<sup>4</sup>MO – matéria orgânica do solo.

As amostras de solo foram secas ao ar, destorroadas e peneiradas em malha com abertura de 2 mm, para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). Neste ensaio, a extração do fósforo (P) foi realizada a partir de amostras de 5 cm<sup>3</sup> de TFSA, medidas com cachimbo coletor, visando facilitar a comparação com resultados previamente reportados na literatura. Para a extração e quantificação do P, as amostras foram submetidas à agitação a 180 opm em mesa agitadora orbital, durante 5 minutos, com 50 mL da solução extratora Mehlich-1 (HCl 0,05 molc L<sup>-1</sup> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025 molc L<sup>-1</sup>), em frascos tipo Erlenmeyer de 125 mL. Os experimentos foram conduzidos com três repetições por tratamento, organizados em esquema fatorial 6x2.

Após o período de decantação, os extratos foram transferidos para tubos de centrífuga com capacidade de 50 mL. As misturas para leitura das absorvâncias foram preparadas em tubos de vidro de 15 mL com tampa rosqueada, utilizando duas proporções diferentes de reagentes para desenvolvimento da coloração: uma com metade das quantidades recomendadas pelo método (Teixeira *et al.*, 2017), consistindo em 2,5 mL da solução padrão, 5,0 mL de solução de molibdato de amônio diluída e 15 mg de ácido ascórbico (denominada MQ); e outra com a quantidade total recomendada pelo método, composta por 5,0 mL da solução padrão, 10,0 mL de solução de molibdato de amônio diluída e 30 mg de ácido ascórbico (denominada

QT). Os volumes das soluções foram medidos com pipetador manual de volume variável (até 5 mL) e o ácido ascórbico foi dosado com um coletor (cachimbo) ajustado para este propósito. As leituras de absorvância foram realizadas entre 30 e 60 minutos após a adição do ácido ascórbico, utilizando um espectrofotômetro UV-VIS ajustado para 660 nm.

Os valores de concentração de P no solo foram submetidos à análise de variância univariada (ANOVA), considerando o tipo de curva e a quantidade de reagentes utilizados no preparo dos extratos para leitura da absorvância como principais fontes de variação. Foi utilizado o software Statistica v.7 (StatSoft, 2004).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Efeito da alteração no intervalo de concentração dos padrões de P sobre a qualidade da curva de calibração

Nas Tabelas 3 e 4 podem ser vistas as médias das absorvâncias de Fósforo (P) lidas em espectrofotômetro de absorção molecular, a 660 nm, para os padrões das curvas de calibração em estudo. Todas as leituras de absorvância estiveram acima do Limite de Detecção (LD), cujos valores foram 0,004 para a Meia Curva (MC) e de 0,003 para a Curva Completa (CC). Neste estudo, a resposta analítica do espectrofotômetro foi corrigida com o uso de um branco (controle), ajustando o zero do aparelho com uma solução de composição idêntica à da amostra, porém sem a presença do P, conforme recomendado por diversos autores (Teixeira *et al.*, 2017; Silva, 2018; Meneghetti, 2018). O uso de um “branco do reagente”, contendo o solvente/extrator e os demais reagentes usados no preparo da amostra para leitura, permite corrigir interferências que poderiam ser causadas pela matriz, embora ainda assim possam ocorrer outras fontes de erros na calibração com o uso de padrão externo (Skoog *et al.*, 2006). Considerando que o sinal analítico, em termos de absorvância para o branco, é ajustado para zero no espectrofotômetro, o coeficiente linear ( $b$ ) no modelo matemático também assume o valor zero. Dessa forma, a equação original  $y = ax + b$  é simplificada para  $y = ax$ . Conforme Santos (2022),  $x$  e  $y$  são denominados, respectivamente, variável independente e variável dependente, uma vez que o valor de  $y$  está sempre condicionado ao valor de  $x$ .

**Tabela 3.** Médias obtidas para as absorvâncias de P nos padrões da meia curva (MC)

Padrão de P	Concentração	Absorvância (A)	
	(mg L <sup>-1</sup> )	MQ <sup>1</sup>	QT <sup>2</sup>
1	0,5	0,078	0,076
2	1,0	0,151	0,150
3	1,5	0,227	0,226
4	2,0	0,299	0,297

Autor: Francisco Fadigas

Nota: <sup>1</sup>MQ – Metade da quantidade de reagentes.

<sup>2</sup>QT – Quantidade total de reagentes recomendada no método original.

**Tabela 4.** Médias obtidas para as absorvâncias de P nos padrões da curva completa (CC)

Padrão de P	Concentração	Absorvância	
	(mg L <sup>-1</sup> )	MQ <sup>1</sup>	QT <sup>2</sup>
1	1	0,151	0,150
2	2	0,299	0,297
3	3	0,440	0,446
4	4	0,590	0,590

Autor: Francisco Fadigas

Nota: <sup>1</sup>MQ – Metade da quantidade de reagentes

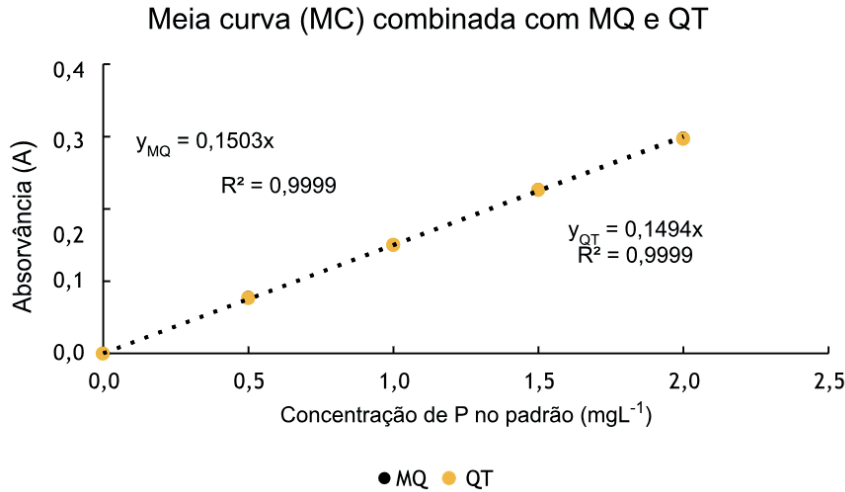
<sup>2</sup>QT – Quantidade total de reagentes recomendada no método original

Os dados de absorvância correspondentes às concentrações de P entre 0,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> foram utilizados para gerar os gráficos de regressão (Figura 1), associando a curva de calibração MC às quantidades de reagentes adicionadas aos extratos para obtenção da coloração azul característica do complexo fosfomolibdico, ou seja, Metade da Quantidade (MQ) e a Quantidade Total (QT) de reagentes recomendada no *Manual de Métodos de Análise de Solo* (Teixeira *et al.*, 2017). O mesmo procedimento foi aplicado para a curva padrão de P com concentração 1,0 a 4,0 mg L<sup>-1</sup> (Figura 2). Em ambas as curvas, para os padrões de MC e CC e nas duas proporções de reagentes (MQ e QT), observou-se um padrão de resposta semelhante entre as combinações avaliadas.

O método descrito (Teixeira *et al.*, 2017) recomenda, para o preparo dos padrões e amostras destinadas à leitura no espectrofotômetro, pipetar 5 mL do extrato de solo, adicionar 10 mL de solução de molibdato de amônio e 30 mg de ácido ascórbico, resultando em um volume total de 15 mL da mistura. Entretanto, aparelhos que utilizam cubetas com capacidade de 3,5 mL vão requerer um volume de solução

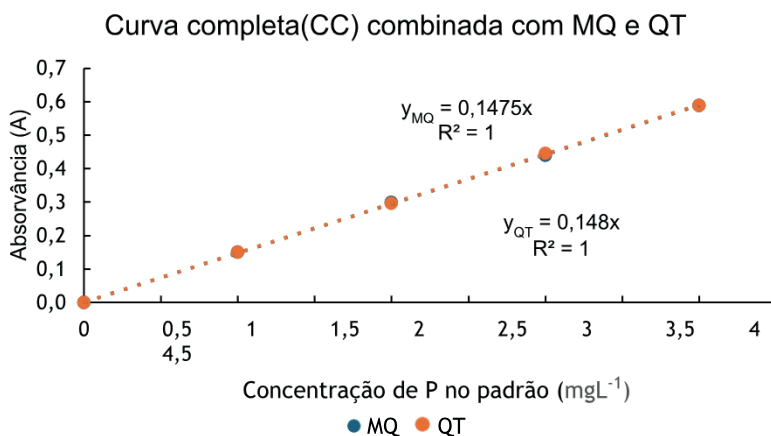
menor que esse nas operações de ambientação e enchimento da cubeta para leitura. A análise gráfica revela que, tanto na curva MC quanto na curva CC, houve coincidência dos pontos, resultando em uma quase total sobreposição das imagens dos gráficos obtidos com o uso de MQ e QT de reagentes. Esses resultados indicam que, dentro de cada curva de calibração, a quantidade de reagentes utilizada na preparação dos extratos para leitura não exerce uma influência perceptível sobre os parâmetros da curva, como a inclinação ( $a$ ) e o ajuste da equação ( $y = ax + b$ ) ao traçado da reta, o que está expresso pelo coeficiente de determinação ( $R^2$ ) próximo a 1.

**Figura 1.** Gráficos de regressão linear para os padrões de P da Meia Curva (MC), utilizando metade da quantidade (MQ) e a quantidade total (QT) de reagentes recomendada no método (Teixeira *et al.*, 2017)



Autor: Francisco Fadigas

**Figura 2.** Gráficos de regressão linear para os padrões de P da Curva Completa (CC), utilizando metade da quantidade (MQ) e a quantidade total (QT) de reagentes recomendada no método (Teixeira *et al.*, 2017)

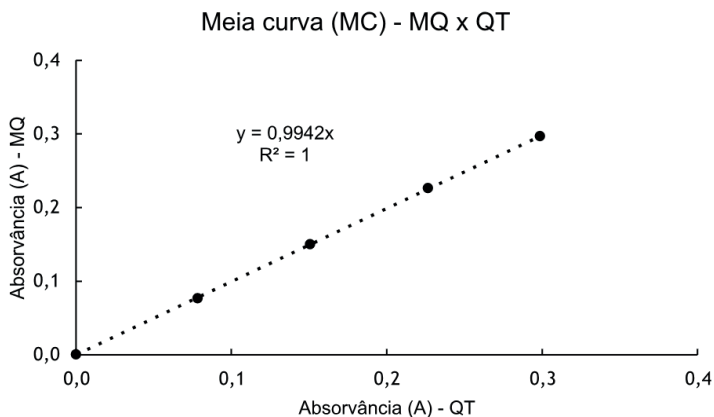


Autor: Francisco Fadigas

A Figura 3 permite avaliar o grau de coincidência entre as curvas geradas a partir da Meia Curva (MC), por meio da comparação dos valores de absorvância

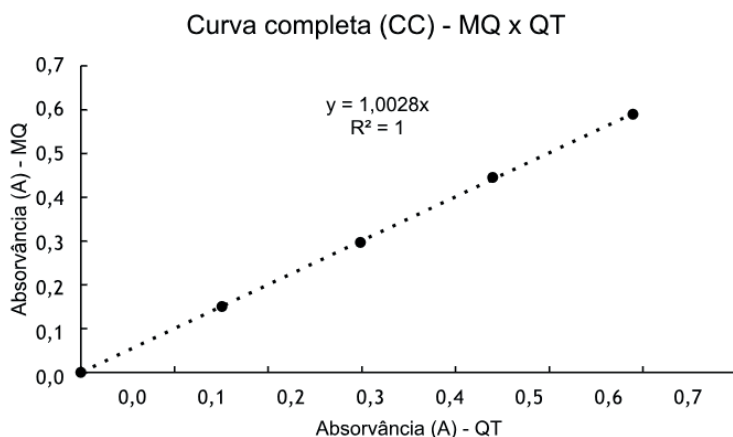
(A) obtidos nas condições de Metade da Quantidade (MQ) e Quantidade Total (QT) de reagentes. Observa-se que, embora o coeficiente angular ( $a$ ) não seja exatamente igual a 1, o que tornaria as absorvâncias das curvas MQ e QT numericamente idênticas, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) indica uma forte aderência entre o modelo matemático e os pontos da curva (Augusto; Andrade; Custodio, 2018). Comportamento semelhante foi observado na regressão obtida para a Curva Completa (CC) ao comparar a condição de Metade da Quantidade (MQ) com a Quantidade Total (QT) de reagentes, conforme ilustrado na Figura 4.

**Figura 3.** Gráfico de regressão linear para as absorvâncias dos padrões de P plotando os valores de MQ versus QT, considerando a MC



Autor: Francisco Fadigas

**Figura 4.** Gráfico de regressão linear para as absorvâncias dos padrões de P plotando os valores de MQ versus QT, considerando a CC.



Autor: Francisco Fadigas

### 3.2 Efeito da redução da quantidade de reagentes (MQ e QT) na absorvância e inclinação da curva de calibração

Os valores das absorvâncias medidas para cada uma das curvas de calibração, combinadas com a metade (MQ) e o total (QT) de reagentes recomendado no método original (Teixeira *et al.*, 2017) juntamente com os coeficientes angulares ( $a$ ), ou seja, as tangentes das retas obtidas graficamente, foram submetidos à análise de variância univariada, para verificar a existência de diferenças estatísticas entre os

tratamentos. Os resultados da ANOVA para essas duas variáveis estão apresentados nas Tabelas 5 e 6. Em ambos os casos, observou-se efeito significativo apenas para o fator “tipo de curva”, representado pelas curvas MC e CC. Esse resultado reforça a pertinência de se reduzir o limite superior de concentração dos padrões na curva de calibração, especialmente quando a análise visa quantificar o teor de P em solos de baixa fertilidade, como os dos Tabuleiros Costeiros da Bahia (Moreau et al., 2006; Carvalho; Nunes, 2022) e Tabuleiros Interiores da Bahia.

O fator “tipo de solo” foi excluído da análise de variância (ANOVA) devido à heterogeneidade das amostras, provenientes de diferentes classes de solo e coletadas em áreas com distintas condições de uso. Essa variabilidade natural influencia diretamente os teores de P, tornando-os independentes tanto do método de extração empregado quanto da principal fonte de variação considerada na análise (Santos; Silva; Griebeler, 2014).

**Tabela 5.** ANOVA – Absorvância (A) em função do tipo de curva (MC e CC) e da quantidade de reagente (MQ e QT) ( $p=0,05$ )

Efeito	SQ	GL	QM	F	p
CURVA <sup>1</sup>	0,796433	1	0,796433	45,4666	0,000
QR <sup>2</sup>	0,000001	1	0,000001	0,0001	0,992
CURVA*QR	0,000026	1	0,000026	0,0015	0,969
Resíduo	1,611552	92	0,017517		

Autor: Francisco Fadigas

Nota: <sup>1</sup>Curva - Meia curva (MC) e Curva completa (CC)

<sup>2</sup>QR - Quantidade de reagentes; Metade da quantidade (MQ) e Quantidade total (QT)

**Tabela 6.** Inclinação da reta (tg)<sup>1</sup> em função do tipo de curva (MC e CC) e quantidade de reagente (MQ e QT) ( $p=0,05$ )

Efeito	SQ	GL	QM	F	p
CURVA <sup>2</sup>	0,000026	1	0,000026	6,0	0,023
QR <sup>3</sup>	0,000000	1	0,000000	0,1	0,754
CURVA*QR	0,000003	1	0,000003	0,6	0,437
Resíduo	0,000085	20	0,000004		

Autor: Francisco Fadigas

Nota: <sup>1</sup>tg – Tangente calculada em planilha eletrônica, a partir da equação do gráfico de cada repetição da curva.

<sup>2</sup>Curva - Meia curva (MC) e Curva completa (CC)

<sup>3</sup>QR - Quantidade de reagentes; Metade da quantidade (MQ) e Quantidade total (QT)

A Tabela 7 apresenta as médias do teste de significância das inclinações das curvas, confirmando que os valores obtidos com a MC foram superiores aos encontrados na CC, tanto na condição de metade da quantidade de reagentes quanto na quantidade total recomendada pelo método original para formação da cor nos padrões. Esses resultados também demonstram que o uso de metade da quantidade de reagentes não influencia significativamente os valores de absorvância medidos para o P.

Assim, os dados indicam que é possível reduzir a quantidade de reagentes empregada na etapa de quantificação de P, contribuindo não apenas para a redução dos custos com insumos químicos, mas também para diminuir os gastos relacionados ao armazenamento e tratamento de resíduos laboratoriais, conforme discutido por Prado (2003) e CropLife (2024).

**Tabela 7.** Comparação das médias obtidas para a inclinação da reta de calibração ( $\text{tg}(\alpha)$ )

Curva	Quantidade de reagente (QR)	
	MQ <sup>1</sup>	QT <sup>2</sup>
Meia curva (MC)	0,1503a <sup>3</sup>	0,1494a
Curva completa (CC)	0,1476b	0,1480b

Autor: Francisco Fadigas

Nota: <sup>1</sup>Metade da quantidade de reagentes recomendada pelo método (Teixeira *et al.*, 2017)

<sup>2</sup>Quantidade total de reagentes recomendada pelo método.

<sup>3</sup>Médias seguidas por letras diferentes, na vertical, diferem estatisticamente entre si ( $p = 0,05$ )

### 3.3 Influência da quantidade de reagentes na quantificação do P em amostras de solo

Os valores de concentração de P disponível no solo foram obtidos pelo método de comparação com padrão externo, utilizando curvas de calibração como referência para as medidas de absorvância obtidas nas amostras. Na análise espectrofotométrica, quando utilizados padrões externos, considera-se como pressuposto que, quando a mesma concentração do analito estiver presente na amostra e no padrão, uma mesma resposta será obtida. Desse modo, a relação funcional da calibração entre a resposta e a concentração do analito também deve se aplicar à amostra (Skoog *et al.*, 2006).

A Tabela 8 apresenta os teores de P no solo em função da quantidade de reagentes utilizada na preparação das misturas para quantificação por espectrofotometria de absorção molecular a 660 nm. A análise das médias revela pequenas diferenças numéricas entre os valores obtidos para MQ e QT. Em metade dos solos analisados, os

teores de P ( $\text{mg dm}^{-3}$ ) obtidos com QT foram ligeiramente superiores aos encontrados com MQ, com diferenças variando de 0,1 a 0,2  $\text{mg dm}^{-3}$ , correspondendo a um aumento de aproximadamente 2% a 5% em relação a MQ.

Considerando as variações naturais na distribuição de P no solo e as incertezas inerentes às etapas que envolvem desde a amostragem até a análise final, essas diferenças podem ser consideradas pouco representativas. Assim, é plausível concluir que o uso de qualquer uma das proporções de reagentes (MQ ou QT) resultará em valores similares para o teor de P em solos com características semelhantes aos incluídos neste estudo.

**Tabela 8.** Comparação das médias obtidas para teor de P disponível no solo, em função da quantidade de reagentes utilizadas na quantificação (MQ e QT)

Solo	P ( $\text{mg dm}^{-3}$ )	
	Metade (MQ) <sup>1</sup>	Total (QT) <sup>2</sup>
Cambissolo Háplico Ta Eutrófico leptofragmentário (CXve)	$4,8 \pm 0,10^3$	$5,0 \pm 0,06$
Cambissolo Háplico Distrófico petroplíntico (CXbd)	$5,7 \pm 0,15$	$5,8 \pm 0,00$
Argissolo Amarelo Distrófico típico (PAdx)	$4,8 \pm 0,06$	$4,8 \pm 0,04$
Argissolo Acinzentado Distrocoeso típico (PACdx)	$3,6 \pm 0,06$	$3,8 \pm 0,06$
Latossolo Amarelo Distrocoeso argissólico (LAdx2)	$8,6 \pm 0,13$	$8,6 \pm 0,23$
Latossolo Amarelo Distrocoeso típico (LAdx1)	$1,7 \pm 0,04$	$1,7 \pm 0,00$

Autor: Francisco Fadigas

Nota: <sup>1</sup>Metade da quantidade (MQ) de reagentes recomendada pelo método (Teixeira *et al.*, 2017)

<sup>2</sup>Quantidade total (QT) de reagentes recomendada pelo método

<sup>3</sup>Média  $\pm$  desvio padrão

#### 4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste estudo, é possível concluir que:

1. A quantidade de reagentes utilizada na preparação dos extratos para leitura não exerce uma influência perceptível sobre os parâmetros da curva de calibração.
2. A utilização da quantidade total de reagentes recomendada no método original, ou de metade dessa quantidade, resulta em valores semelhantes para o teor de P em solos com características comparáveis às das amostras analisadas neste estudo.
3. É possível reduzir a quantidade de reagentes empregada na etapa de quantificação de P, reduzindo, assim, os custos com as análises e com o tratamento de resíduos.

## 5. REFERÊNCIAS

AUGUSTO, F.; ANDRADE, J. C. A.; CUSTODIO, R. Faixa linear de uma curva de calibração. **Revista Chemkeys**, n. 3, p. 1-8, set. 2018. Disponível em: <https://econtents.bc.unicamp.br/inpec/index.php/chemkeys/article/view/9627>. Acesso: 23 nov. 2024.

BIOTECC. **Reagentes Químicos e Sustentabilidade**: contribuições para um futuro mais verde. 2023. Disponível em: <https://www.biotecc.com.br/post/reagentes-quimicos-e-sustentabilidade-contribuicoes-para-um-futuro-mais-verde>. Acesso em: 27 out. 2024.

CARVALHO, C. C. N. NUNES, F. C. Solos de tabuleiro do Recôncavo Baiano (Brasil): gênese, transformação e neotectonismo. **Revista de Geociências do Nordeste**, v. 8, n. 2, p. 114-125, 2022.

CROPLIFE. **Química verde**: uma nova forma de se produzir. 2020. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/quimica-verde-uma-nova-forma-de-se-produzir/>. Acesso: 27 out. 2024.

DONAGEMA, G. K. *et al.* (orgs). **Manual de métodos de análise de solos**. Rio de Janeiro, RJ: Embrapa Solos, 2011. 230 p. (Documentos / Embrapa Solos, ISSN 1517-2627; 132).

EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro, RJ: EMBRAPA-SNLCS, 1979.

FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. da; FERREIRA JUNIOR, M. E. **Avaliação da fertilidade empregando o sistema IAC de análise de solo**. Jaboticabal, SP: FCAV, 1990. 94 p. HARRIS, D. C.; BARCIA, O. E. **Análise Química Quantitativa**. 8. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2012. 920p.

HOLLER, F. J. *et al.* **Princípios de análise instrumental**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1056 p.

LANA, M. C. *et al.* **Análise química de solo e tecido vegetal**: práticas de laboratório. Cascavel, PR: EDUNIOESTE, 2010.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba, SP: POTAFOS, 1997. 319 p.

MENEGHETTI, A. M. **Manual de procedimentos de amostragem e análise química de plantas, solo e fertilizantes**. Curitiba, PR: EDUTFPR, 2018. 252 p.

MICROSOFT CORPORATION. **Excel**: software para planilhas eletrônicas. Office 365. Redmond: Microsoft, 2024.

MOREAU, A. M. S. S. *et al.* Caracterização de solos de duas toposseqüências em tabuleiros costeiros do sul da Bahia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 1007-1019, 2006.

NOGUEIRA, A. R. A. *et al.* Tecido Vegetal. *In*: Nogueira, A. R. A., Souza, G. B. (eds.). **Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 334 p.

PRADO, A. G. S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. **Quim. Nova**, v. 26, n. 5, p.738-744, 2003.

RAIJ, B. van *et al.* **Análise química do solo para fins de fertilidade**. Campinas, SP: Fundação Cargill, 1987. 170p.

RAIJ, B. van.; QUAGGIO, J. A. Determinação de fósforo, cálcio, magnésio e potássio extraídos com resina trocadora de íons. *In*: RAIJ, B. V. *et al.* (Org.). **Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais**. Campinas, SP: Instituto Agrônômico, 2001. p. 189-199.

RAPOSO, R. W. C. **Metodologias para análise química da fertilidade e salinidade do solo e água**. Areia, PB: UFPB, 2014. 66p.

SÁ, L. P.; GUEDES, J. N. **Manual de rotina: um guia prático para análises de solos, água, tecido vegetal, biofertilizantes e corretivos**. Montes Claros, MG: Editora do IFNMG, 2023. 67 p.

SANTOS, C. O. **Funções**. Capivari de Baixo: Editora Univinte, 2022.

SANTOS, L. S.; SILVA, L. S.; GRIEBELER, G. Ácido ascórbico como agente redutor para a determinação de fósforo por colorimetria. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 6, p. 1015-1018, 2014.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627p.

SILVA, F. C. *et al.* **Manual de métodos de para avaliação da fertilidade do solo**. Rio de Janeiro RJ: EMBRAPA-CNPQ, 1998. 56p. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 3).

SILVA, S. B. **Análise de solos para ciências agrárias**. 2. ed. Belém, AM: Universidade Federal Rural da Amazônia, 2018. 167 p.

SKOOG, WEST, D.M, HOLLER, J., CROUCH, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª edição norte-americana. São Paulo (SP): Thomson, 2006. 999 p

STATSOFT, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 7. Tulsa, OK: StatSoft, 2004.

TEDESCO J. M. *et al.* **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim Técnico de Solos, 5).

TEIXEIRA, P. C. *et al.* **Manual de métodos de análise de solo**. 3. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2017.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure Appl. Chem.**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.

VETTORI, L. **Métodos de análise do solo**. Rio de Janeiro, RJ: Ministério da Agricultura, 1969. 34p. (Boletim Técnico n. 7)

VOGEL. A. I. *et al.* **Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002. 462 p.