



C A P Í T U L O 6

NOTA SOBRE OS CÁLCULOS DA CONCENTRAÇÃO DE P NO SOLO

Francisco de Souza Fadigas

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

Resumo: As curvas de calibração para a análise de fósforo (P) por espectrofotometria são normalmente descritas por uma equação linear do tipo $y = ax + b$, obtida por análise de regressão. Ao plotar as leituras da absorvância de soluções padrão num gráfico estas fornecem uma reta que passa pela origem (0;0) do eixo cartesiano. Neste estudo, avaliou-se o impacto da inclusão do coeficiente linear (b) nas equações de regressão utilizadas na de P extraído com Mehlich-1, quando este é quantificado pelo método do azul de molibdênio. Foram construídas curvas de calibração a partir de três conjuntos de soluções padrão de P, com as seguintes concentrações: 0,0;0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L⁻¹, 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg L⁻¹ e 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L⁻¹. As equações lineares foram ajustadas com e sem o termo b , utilizando planilhas eletrônicas, e aplicadas para estimar o teor de P em amostras de seis solos dos Tabuleiros Interiores do Recôncavo Baiano. Os resultados indicaram que, quando adotadas boas práticas analíticas, o valor de b tende a ser nulo ou desprezível. Dessa forma, a exclusão do coeficiente linear nas equações de calibração não compromete a precisão da análise de fósforo em solos.

Palavras-chave: análise de fósforo; coeficiente linear; curva de calibração; equação linear.

Note on soil P concentration calculations

Abstract: Calibration curves for phosphorus (P) analysis by spectrophotometry are typically described by a linear equation of the form $y = ax + b$, obtained through regression analysis. When plotting the absorbance readings of standard solutions, the resulting line usually passes through the origin (0,0) of the Cartesian plane. This study evaluated the impact of including the linear coefficient (b) in regression equations used to determine P extracted with Mehlich-1, quantified by the molybdenum blue

method. Calibration curves were constructed using three sets of standard P solutions, with the following concentrations: 0.0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 3.0; and 4.0 mg L⁻¹; 0.0; 0.5; 1.0; 1.5; and 2.0 mg L⁻¹; and 0.0; 1.0; 2.0; 3.0; and 4.0 mg L⁻¹. Linear equations were fitted with and without the *b* term using spreadsheet software and then applied to estimate the P concentration in six soil groups from the Inland Tablelands of the Recôncavo Baiano. The results indicated that, when good analytical practices are followed, the value of *b* tends to be zero or negligible. Therefore, omitting the linear coefficient in calibration equations does not compromise the accuracy of phosphorus determination in soil samples.

Keywords: phosphorus analysis; linear coefficient; calibration curve; linear equation.

1. INTRODUÇÃO

A calibração de instrumentos e procedimentos pode ser obtida com o uso de padrões externos, quando não há efeito de interferência de componentes da matriz na solução do analito. Neste caso, pode ser preparada uma série de soluções contendo o analito em concentrações conhecidas e, então, usadas no processo de calibração (Skoog *et al.*, 2006). Uma curva de calibração típica pode ser descrita por uma reta do tipo $y = ax + b$, o que pode ser facilmente obtido por meio de uma análise de regressão, utilizando o método dos mínimos quadrados (Harris, 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 a qual comprimento de onda 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).

Historicamente, os gráficos e cálculos da equação que define a curva de calibração para fósforo (P) têm sido elaborados assumindo o coeficiente linear igual a zero (*b* = 0). Desde as primeiras publicações de manuais de análise de solos que incluem o uso do extrator Mehlich-1 para a determinação de P, a equação da reta de calibração tem sido expressa na forma $y = ax$, com intercepto na origem (Vetori, 1969; EMBRAPA, 1979; Tedesco *et al.*, 1995; Silva, 1998; Silva, 2009; Donagema, 2011; Silva, 2018).

Tedesco *et al.* (1995) definem a curva de calibração de P pela equação 1, assumindo que o coeficiente linear *b* = 0 (coeficiente linear), ou seja, que na ausência de P no padrão, a absorvância é igual a zero. Dessa forma, a reta passa pela origem do plano cartesiano (0,0). Segundo esses autores, o teor de P no solo é calculado usando a fórmula 1, sem considerar o valor do coeficiente linear *b*.

$$\text{Equação 1: } y = 0,18913x \text{ R}^2 = 0,9993$$

$$\text{Fórmula 1: } P(\text{mg dm}^{-3}) = \text{leitura} \times f_c \times f_d$$

onde: Leitura - absorvância medida para a mostra; f_c - fator de concentração para o ponto 1,75 mg L⁻¹; f_d - fator de diluição da amostra.

Um outro método, descrito por Silva (2009), recomenda a preparação de uma curva padrão a partir de soluções diluídas de P (1, 2, 3 e 4 mg L⁻¹) e a realização das leituras de absorvância em espectrofotômetro devidamente calibrado. Segundo o autor, as leituras desses quatro padrões guardam uma proporção constante entre si e, quando plotadas em um gráfico, fornecem uma reta que passa pela origem, ou seja, pelo ponto 0,0 do plano cartesiano. Consequentemente, o valor do coeficiente linear (b), neste caso, será igual a zero. O cálculo da concentração, realizado com fórmula 2, considera apenas o fator F_p , que corresponde ao coeficiente angular (a) da reta obtida com os padrões de P.

$$\text{Fórmula 2: } \text{mg de P/dm}^{-3} \text{ na TSFA} = \text{leitura} \times 10 \times F_p$$

Onde: leitura – absorvância medida; Valor 10 – diluição sofrida na extração (1:10); F_p – coeficiente angular da reta de calibração.

Na versão do *Manual de Métodos de Análise de Solo* publicada em 2017 (Teixeira *et al.*, 2017), foi introduzido o uso do coeficiente linear (b) no cálculo do teor de P no solo, conforme apresentado na fórmula 3. A inclusão do coeficiente linear indica que a curva de calibração necessariamente não passa pela origem (0,0), sugerindo que, mesmo para uma concentração zero (ausência) de P no padrão (branco do reagente), o espectrofotômetro registrará um sinal analítico.

$$\text{Fórmula 3: } P = (L - b) \cdot d \cdot 10/a$$

Onde: P – concentração de fósforo disponível no solo, em mg kg⁻¹; L – leitura da amostra, em absorvância; a – coeficiente angular da reta dos padrões; b – coeficiente linear da reta dos padrões; d – fator de diluição do extrato de Mehlich-1; Valor 10 – fator que leva em consideração a diluição solo : extrator.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da inclusão do coeficiente linear (b) nas equações de regressão utilizadas na determinação do fósforo (P) extraído com Mehlich-1 e quantificado pelo método do azul de molibdênio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram construídas curvas de calibração a partir de três conjuntos de soluções padrão de P, com as seguintes concentrações: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L⁻¹ (denominada curva total - CT), 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L⁻¹ (denominada curva completa - CC) e 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg L⁻¹ (denominada meia curva - MC). As equações lineares ajustadas para cada curva foram calculadas com e sem a presença do *b*, utilizando a planilha eletrônica Excel, versão disponível no pacote Microsoft 365.

Estas equações foram, então, aplicadas para o cálculo dos valores da concentração de P em amostras de seis solos provenientes dos Tabuleiros Interiores do Recôncavo Baiano: Cambissolo Háplico Ta Eutrófico leptofragmentário (CXve); Cambissolo Háplico Distrófico petroplíntico (CXbd); Argissolo Amarelo Distrófico típico (PAdx); Argissolo Acinzentado Distrocoeso típico (PACdx); Latossolo Amarelo Distrocoeso argissólico (LAdx2); Latossolo Amarelo Distrocoeso típico (LAdx1). As amostras foram coletadas na profundidade de 0 a 20 cm e apresentavam diferentes teores de argila, além de variações nos teores de P disponível (Tabelas 1 e 2). Para a obtenção e quantificação do P extraído, as amostras de solo foram submetidas à agitação a 180 rpm, em mesa agitadora orbital. As amostras foram agitadas, por 5 minutos, com 50 mL de solução Mehlich- 1 (HCl 0,05 molL⁻¹ e H₂SO₄ 0,025 molL⁻¹), em Erlenmeyer de 125 mL, sendo utilizadas três repetições por tratamento.

A quantificação do P nas amostras de solo foi realizada pelo método do azul de molibdênio. As misturas para leitura foram preparadas em tubos de vidro, com tampa rosqueada de 15 mL, contendo 2,5 mL do extrato decantado, 5,0 mL de solução de molibdato de amônio diluída e 15 mg de ácido ascórbico. 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.

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 kg ⁻¹)	Localização		Granulometria (g Kg ⁻¹)			COrg (g)
	(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 ₂ O)	4,3	4,5	4,3	4,6	5,2	4,4
P (mg dm ⁻³)	4,0	5,0	3,0	3,0	5,0	2,0
K (cmolc dm ⁻³)	0,2	0,18	0,20	0,12	0,14	0,04
Ca (cmolc dm ⁻³)	1,06	0,94	0,71	0,88	2,36	0,30
Mg (cmolc dm ⁻³)	0,90	0,64	0,58	0,50	0,90	0,18
Ca+ Mg (cmolc dm ⁻³)	1,96	1,57	1,30	1,38	3,26	0,48
Al (cmolc dm ⁻³)	1,2	1,0	1,5	0,7	0,2	0,9
Na (cmolc dm ⁻³)	0,05	0,03	0,05	0,04	0,02	0,03
Al + H (cmolc dm ⁻³)	4,17	3,96	4,15	3,41	2,88	2,16
SB ¹ (cmolc dm ⁻³)	2,21	1,78	1,55	1,54	3,42	0,55
CTC ² (cmolc dm ⁻³)	6,38	5,74	5,69	4,95	6,30	2,70
V ³ (%)	35	31	27	31	54	20
MO ⁴ (g kg ⁻¹)	12,7	13,0	13,8	14,0	19,3	9,3

Autor: Francisco Fadigas

Nota: ¹SB - soma de bases; ²CTC – capacidade de troca de cátions;

³V – saturação por bases; ⁴MO – matéria orgânica do solo

Os valores de concentração de P no solo foram submetidos à análise de variância univariada (ANOVA), considerando o tipo de curva e a presença ou ausência do coeficiente linear (*b*) como principais fontes de variação. Foi utilizado o software Statistica v.7 (StatSoft, 2004) na análise dos dados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 3 apresenta as equações correspondentes às curvas de calibração, construídas a partir de conjuntos de padrões com diferentes concentrações de fósforo (P). Os valores obtidos para o coeficiente linear (*b*) nas três equações variaram entre 0,004 e 0,006. Observou-se que os coeficientes angulares (*a*) foram numericamente maiores nas equações calculadas com o intercepto fixado em zero. No entanto, admitir um valor distinto de zero para *b* configura uma violação de um dos pressupostos básicos do método de calibração com padrões externos, quando o equipamento é ajustado com a solução branco do reagente.

Tabela 3. Curvas de calibração utilizando diferentes conjuntos de soluções padrão de fósforo obtidas por espectrofotometria de absorção molecular a 660 nm¹

Equação com <i>b</i>	R ²	Equação sem <i>b</i>	R ²
$Y = 0,1489x + 0,0065^2$	0,9996	$Y = 0,1513x$	0,9997
$Y = 0,1513x + 0,0044^3$	0,9988	$Y = 0,1543x$	0,9994
$Y = 0,1494x + 0,0043^4$	0,9997	$Y = 0,1508x$	0,9999

Autor: Francisco Fadigas

Notas: ¹Método do azul de molibdato

²Padrões: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L⁻¹ de P (CT)

³Padrões: 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L⁻¹ de P (CC)

⁴Padrões: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg L⁻¹ de P (MC)

Admitindo-se que o espectrofotômetro deve ser calibrado para o ponto zero de absorvância com o padrão do branco do reagente (0,0 mg L⁻¹ de P), contendo o extrator Mehlich-1 (solvente) e todos os demais reagentes utilizados no preparo das amostras e dos padrões do analito, então, em teoria, não há por que cogitar um valor de *b* na equação. Necessariamente, quando a concentração de P no padrão é zero (ausência de P) o valor da absorvância neste ponto da curva também será zero. Este procedimento também é descrito por Silva (2018) na publicação *Análise de Solos para Ciências Agrárias*.

Outra abordagem possível, do ponto de vista analítico, consiste em realizar a leitura da absorvância do branco do reagente separadamente e, em seguida, subtrair esse valor das leituras obtidas para os padrões e amostras. Nesse caso, a curva de calibração também deve interceptar a origem do plano cartesiano, uma vez que o ajuste do “zero” do equipamento seria feito na ausência de fósforo (P) na solução (Grasshoff, Kremling e Ehrhardt, 1999).

O surgimento de um valor distinto de zero para o coeficiente linear (*b*), ao se determinar a equação da curva de calibração do fósforo (P) em planilhas eletrônicas, decorre da tentativa de ajustar matematicamente o modelo aos pontos experimentais de absorvância dos padrões. O modelo gerado pelo método dos mínimos quadrados incorpora as variações observadas nas leituras, buscando minimizar os desvios e obter a melhor linha de ajuste possível. Assim, *b* só assume valor diferente de zero quando os pontos não se alinham perfeitamente à origem. Ressalta-se que programas como o Excel permitem fixar a interseção da curva no ponto (0,0) por meio do recurso “definir interseção”, o que elimina a presença de *b* na equação resultante.

Nesse contexto, as variações que resultam no aparecimento de um valor para *b* estão associadas a má qualidade da curva de calibração. Por isso, é importante corrigir possíveis erros na preparação dos padrões, nos ajustes operacionais do

equipamento, na obtenção das medidas das absorvâncias dos padrões da curva de calibração e assegurar que as matrizes de padrões e amostras estejam adequadamente equalizadas. Quando são seguidas as boas práticas analíticas, as equações obtidas tendem a apresentar valores de *b* próximos de zero ou suficientemente baixos para serem considerados desprezíveis.

A Tabela 4 apresenta os resultados da análise de variância univariada (ANOVA) para os teores de P no solo, utilizando as equações obtidas a partir de curvas de calibração (Tabela 3), considerando ou não o valor de *b*. Os resultados indicam que não houve efeito significativo para o fator *b* no cálculo (presença ou ausência de *b*). Assim, pode-se concluir que os valores de P no solo não diferem estatisticamente entre si, usando ou não o valor de *b* obtido na equação de ajuste do modelo matemático (Tabela 5). Este resultado reforça a ideia de que, em curvas de calibração bem construídas, o valor de *b* é dispensável no cálculo do teor de P em amostras de solo simplificando-se a fórmula para cálculo (fórmula 4) como segue:

$$\text{Fórmula 4: } P = L \cdot d \cdot 10/a$$

onde : P – concentração de fósforo disponível no solo, em mg dm-3; L – leitura da absorvância (A); *a* – coeficiente angular da reta dos padrões; *d* – fator de diluição do extrato de Mehlich-1, quando uma diluição for necessária durante a quantificação; Valor 10 – fator que leva em consideração a relação de diluição solo: extrator (5 ml de solo : 50 do extrator).

Tabela 4. ANOVA - Efeito do uso ou não do coeficiente linear (*b*) na equação para o cálculo dos teores de P no solo, em função da curva de calibração utilizada

Efeito	Soma de Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado Médio	F	<i>p</i> (significância)
Fórmula ¹	0,121	2	0,061	0,0108	0,989
Fator <i>b</i> ²	1,863	1	1,863	0,3329	0,565
Fórmula*Fator <i>b</i>	0,161	2	0,081	0,0144	0,986
Resíduo	570,789	102	5,596		

Autor: Francisco Fadigas

Notas: ¹ Equações lineares transformadas em fórmulas para cálculo do teor de P no solo.

² Presença e ausência do coeficiente linear (*b*) no cálculo do teor de P no solo.

Tabela 5. Comparação das médias obtidas para os valores de P no solo em função do tipo de curva de calibração e da presença ou não do coeficiente linear (*b*)

Formula ¹	Concentração de P (mg dm ⁻³) ²	
	Com <i>b</i>	Sem <i>b</i>
Curva total (CT)	4,1	4,5
Curva completa (CC)	4,2	4,2
Meia curva (MC)	4,2	4,4

Autor: Francisco Fadigas

Notas: 1 Equações lineares transformadas em fórmulas para cálculo do teor de P no solo.

² Média geral para os seis solos.

4. CONCLUSÃO

Com base nas considerações apresentadas, recomenda-se o ajuste do ponto zero da curva de calibração utilizando a solução branco do reagente, sendo desaconselhada a inclusão do coeficiente linear (*b*) no cálculo do teor de fósforo (P) no solo.”

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.

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.

GRASSHOFF, K.; KREMLING, K.; EHHARDT, M. **Methods of Seawater Analysis**. Alemanha: WILEY-VCH, 1999.

HARRIS, D. C.; BARCIA, O. E. **Análise Química Quantitativa** . 8. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2012. 920p.

SILVA, F. C. da. **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, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. 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.

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

ANEXOS

ANEXO A – COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS

QUADRO 1. Quadro comparativo entre a metodologia para análise de fósforo (P) no solo descrita por Teixeira *et al.*(2017) e a proposta a partir dos resultados deste estudo.

· Procedimento para extração		Observação
Teixeira <i>et al.</i> (2017)	Proposta	
✓ Pesar 10 g de solo (TFSA) e colocar em Erlenmeyer de 125 mL.	· Medir 5 mL de solo (TFSA) e colocar em Erlenmeyer de 125 mL	· Homogeneizar previamente a amostra. · Caso deseje determinar apenas o P, utilizar 2,5 mL
✓ Adicionar 100 mL de solução extratora Mehlich-1 (HCl 0,05 mol L ⁻¹ e H ₂ SO ₄ 0,0125 mol L ⁻¹)	· Adicionar 50 mL de solução extratora Mehlich- 1 (HCl 0,05 mol L ⁻¹ e H ₂ SO ₄ 0,0125 mol L ⁻¹)	· Usar pipeta volumétrica. · Caso deseje determinar apenas o P, utilizar 25 mL
✓ Agitar durante 5 minutos em agitador circular horizontal.	· Agitar durante 5 minutos em mesa agitadora orbital a 180 opm.	· Certificar-se de que os Erlenmeyers estão bem fixos nas garas da mesa agitadora.
✓ Deixar decantar durante uma noite.	· Deixar decantar durante uma noite (cerca de 16 horas)	· Retirar da mesa agitadora e colocar sobre a bancada onde será pipetada a alíquota para análise.
✓ Pipetar, sem filtrar, 25 mL do extrato e passar para recipiente plástico.	· Pipetar, sem filtrar, 25 mL do extrato e passar para recipiente plástico.	· Sugerimos utilizar tubos de centrífuga de 50 mL · Caso deseje determinar apenas o P, pipetar 10 mL
2. Preparo do extrato de solo para a leitura		
✓ Pipetar 5,00 mL desse extrato e colocar em Erlenmeyer de 125 mL	· Pipetar 2,5 mL do extrato e colocar em tubo de vidro com tampa rosqueada	· Opcionalmente, usar tubo de centrífuga de 15 mL · Caso o extrato contenha partículas sólidas em suspensão, será necessário filtrá-lo.
✓ Adicionar 10 mL de solução ácida de molibdato de amônio diluída e aproximadamente 30 mg de ácido ascórbico em pó, como redutor.	· Adicionar 5 mL de solução ácida de molibdato de amônio diluída e cerca de 15 mg de ácido ascórbico P.A. em pó.	· A solução ácida de molibdato de amônio diluída poderá ser medida com auxílio de pipetador manual. · O ácido ascórbico poderá ser medido em dosador (cachimbo) ajustado para 15 mg
✓ Agitar de 1 a 2 minutos em agitador circular horizontal.	· Agitar para dissolver o ácido ascórbico em agitador para tubos.	· Opcionalmente, fazer agitação manual, por cerca de 15 segundos ou até não restar mais cristais de ácido ascórbico no fundo do recipiente.

Nota sobre os cálculos da concentração de P no solo

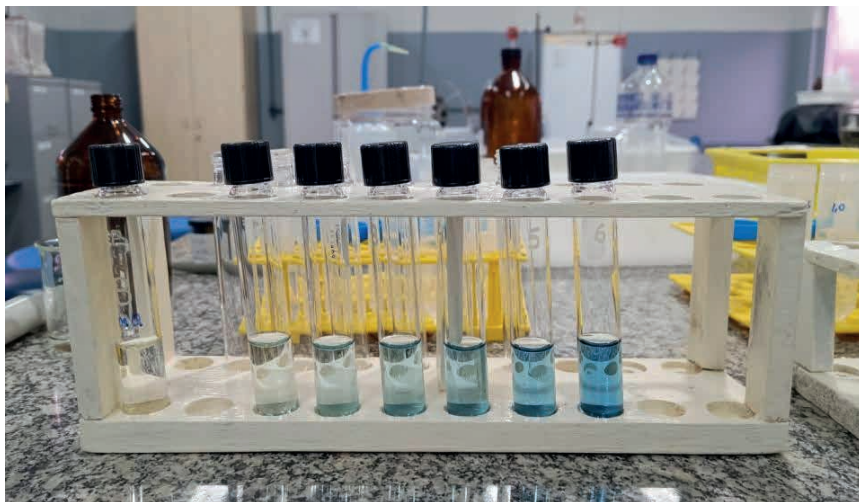
3. Obtenção da curva de calibração		
✓ Preparar soluções padrão de fósforo (diluídas) – 1, 0 mg L ⁻¹ ; 2,0 mg L ⁻¹ ; 3,0 mg L ⁻¹ e 4,0 mg L ⁻¹ de P.	• Preparar soluções padrão de fósforo contendo: 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg L ⁻¹	• No caso de solos com teores de P de médio a alto, usar a curva de calibração de 1 a 4 mg L ⁻¹
✓ Usar também a solução extratora pura para obter a concentração de 0,0 mg L ⁻¹ de P.	• Obter a solução do branco do reagente (0,0 mg L ⁻¹ de P) pipetando 2,5 mL da solução extratora (Mehlich-1) + 5,0 de molibdato de amônia + 15 mg de ácido ascórbico em pó.	• O branco deve conter os mesmos reagentes utilizados no preparo das amostras para leitura.
✓ Colocar, em Erlenmeyer de 125 mL, 5,00 mL de cada solução padrão diluída.	• Pipetar 2,5 mL de cada padrão de P e colocar em tubo de vidro com tampa rosqueada.	• Utilizar pitador manual com ponteira substituível.
✓ Adicionar 10 mL da solução ácida de molibdato de amônio diluída e uma “pitada” (aproximadamente 30 mg) de ácido ascórbico.	• Adicionar 5 mL de solução ácida de molibdato de amônio diluída e cerca de 15 mg de ácido ascórbico P.A. em pó.	• Utilizar pitador manual com ponteira substituível e dosador calibrado para 15 mg
✓ Proceder da mesma forma indicada para a determinação do fósforo no extrato de solo; anotar as leituras (em absorvância) correspondentes a cada padrão.	• Agitar para dissolver o ácido ascórbico em agitador para tubos. • Deixar desenvolver a cor durante 30 min após a adição do ácido ascórbico. • Ajustar o espectrofotômetro para o ponto zero de absorvância com a solução do branco do reagente. • Fazer a leitura da absorvância ou concentração em espectrofotômetro-UV-Vis, ajustando o comprimento de onda para 660 nm.	• Opcionalmente, agitar manualmente até dissolver os cristais de ácido ascórbico.
✓ Traçar o gráfico concentração vs absorvância, cruzando-se os valores de concentração de fósforo dos padrões (mg L ⁻¹ de P) no eixo das abscissas, e as respectivas leituras, em absorvância, no eixo das ordenadas.	• Construir a curva de calibração em planilha eletrônica, estabelecendo o ponto 0,0 do plano cartesiano como intercepto ($b = 0$).	• A reta passa pela origem do plano cartesiano.
4. Quantificação do P nas amostras		
✓ Deixar desenvolver a cor durante 1 hora.	• Deixar desenvolver a cor durante 30 min após a adição do ácido ascórbico.	• Deixar as misturas em repouso.
✓ Em seguida, fazer a leitura da densidade ótica no espectrofotômetro-UV-Vis, usando filtro vermelho (comprimento de onda de 660 nm).	• Fazer a leitura da absorvância ou concentração em espectrofotômetro-UV-Vis, ajustando o comprimento de onda para 660 nm.	• As leituras devem ser efetuadas no intervalo entre 30 e 60 min após acrescentar o ácido ascórbico.

✓ No caso de a amostra possuir elevada concentração de fósforo, deve ser feita a diluição do extrato antes da adição da solução ácida de molibdato de amônio, até que seja possível a leitura no aparelho.	• Caso a leitura da amostra esteja acima do limite máximo da curva de calibração, fazer a diluição do extrato até que seja possível a leitura dentro do intervalo da curva.	• A diluição deverá ser feita adicionando ao extrato porções medidas da solução extratora e repetindo o item 2.
✓ Sempre lavar o pipetador entre uma amostra e outra.	• Usar ponteiros substituíveis para pipetar as alíquotas da mistura ou transferir a solução, com cuidado, do tubo para a cubeta.	• Usando cubetas de 3,5 mL (caminho ótico de 1 cm), o volume de 7,5 mL é suficiente para ambientar a cubeta e depois enchê-la com a solução para leitura.
5. Cálculo da concentração de P no solo		
✓ $P = (L - b) \cdot d \cdot 10/a$ Em que: P – concentração de fósforo disponível no solo, em mg kg⁻¹. L – leitura da amostra, em absorvância. a – coeficiente angular da reta dos padrões (intercepto). b – coeficiente linear da reta dos padrões. d – fator de diluição do extrato de Mehlich-1 (se não for necessária a diluição, considerar d = 1). Valor 10 – fator que leva em consideração a diluição solo: extrator.	• $P = L \cdot d \cdot 10/a$ onde : P – concentração de fósforo disponível no solo, em mg dm⁻³; L – leitura da absorvância (A); a – coeficiente angular da reta dos padrões; d – fator de diluição do extrato de Mehlich-1, quando uma diluição for necessária durante a quantificação; Valor 10 – fator que leva em consideração a relação de diluição solo : extrator (5 ml de solo : 50 do extrator).	• Desaconselhamos o uso do coeficiente linear (b) no cálculo do teor de P no solo, obtendo a fórmula simplificada a partir da equação: $y = ax$ • No caso de a extração ser realizada com a mistura de 2,5 ml de solo : 25mL do extrator o fator de diluição permanecerá sendo o mesmo (10).

Autor: Francisco Fadigas

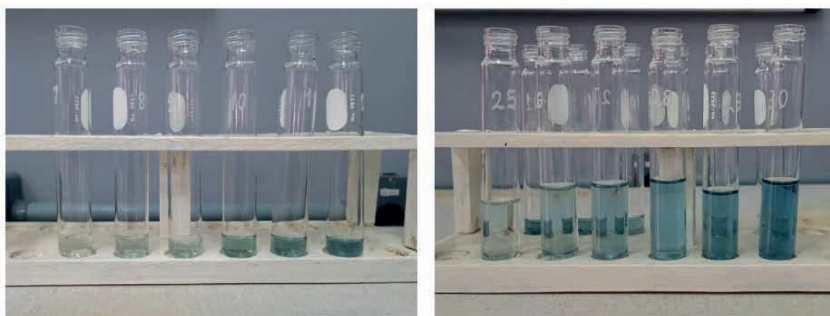
ANEXO B - REGISTRO FOTOGRÁFICO DE ALGUMAS ETAPAS DA ANÁLISE DE P DO SOLO

Fotografia 1. Curva de calibração obtida com metade da quantidade dos reagentes (MQ) e concentrações de P iguais a 0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 m gL⁻¹



Autor: Francisco Fadigas

Fotografia 2. Resíduo de reagentes gerado no final da leitura da absorvância ao utilizar metade da quantidade de reagentes – MQ (2a) e a quantidade total de reagentes – QT (2b)



Autor: Francisco Fadigas

Fotografia 3. Materiais e reagentes utilizados na preparação das soluções para leitura da absorvância em espectrofotômetro



Autor: Francisco Fadigas

Fotografia 4. Extrato de solo após agitação contendo a esfera de vidro (4a) e sem a presença da esfera (4b)



Autor: Francisco Fadigas