

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

EDUARDA AGUITA SEVERO

**DESENVOLVIMENTO DE SPOT TEST PARA DETERMINAÇÃO DE
FÓSFORO EM SOLOS COM QUANTIFICAÇÃO POR IMAGEM
DIGITAL.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA

2021

EDUARDA AGUITA SEVERO

**DESENVOLVIMENTO DE SPOT TEST PARA DETERMINAÇÃO DE
FÓSFORO EM SOLOS COM QUANTIFICAÇÃO POR IMAGEM
DIGITAL.**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado a disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso de Licenciatura em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Medianeira, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciada em Química.

Orientador: Prof. Dr. Oldair Donizeti Leite

MEDIANEIRA

2021

TERMO DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO DE SPOT TEST PARA DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO EM SOLOS COM QUANTIFICAÇÃO POR IMAGEM DIGITAL

por

EDUARDA AGUITA SEVERO

Esse trabalho de conclusão de curso foi apresentado às 18 horas do dia 14 de maio de dois mil e vinte e um, como requisito parcial para a obtenção do diploma de graduação do curso de Licenciatura em Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo relacionados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Oldair Donizeti Leite
UTFPR *Campus* Medianeira
Orientador

Prof. Dr. Giovana Clarice Poggere
UTFPR *Campus* Medianeira

Prof. Dr. Fábio Orsatto
UTFPR *Campus* Medianeira

Dedico este trabalho aos meus pais, Elenice e Eliseu, que sempre me incentivaram a buscar meus objetivos, me instruíram durante o caminho e me tornaram a pessoa que sou hoje.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, que fez com que meus objetivos fossem alcançados, durante todos os meus anos de estudos.

Aos meus pais, Elenice e Eliseu, as minhas irmãs, Maria e Flávia, ao meu companheiro de vida, Anderson, e a todos os familiares, que me incentivaram nos momentos difíceis e me deram todo o apoio e ajuda, que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas de laboratório, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o curso.

Ao professor Dr. Oldair, por ter sido meu orientador durante todo o período de iniciação científica e trabalho de conclusão de curso, e ter desempenhado tal função com dedicação e amizade.

Aos demais professores do curso, por todos os ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso, e também, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado.

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste e de outros trabalhos de pesquisa ao longo desses anos de curso, que me incentivaram e que certamente tiveram impacto na minha formação acadêmica, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

Adoro as coisas simples. Elas são o último refúgio de um espírito complexo.

Oscar Wilde

RESUMO

SEVERO, Eduarda Aguita. DESENVOLVIMENTO DE SPOT TEST PARA DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO EM SOLOS COM QUANTIFICAÇÃO POR IMAGEM DIGITAL. 43 f. TCC (Curso de Licenciatura em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Medianeira, 2021.

As análises de solo são feitas para a avaliação da disponibilidade de nutrientes para as plantas e da reação do solo. Serve, assim, para a prescrição de corretivos e fertilizantes. Em geral as plantas necessitam de 16 elementos para o desenvolvimento e crescimento adequado. Treze destes elementos, comumente denominados nutrientes, podem estar disponíveis no solo ou podem ser complementados pelo emprego de adubo mineral e/ou orgânico. Entre estes elementos se destaca o fósforo que é indispensável para o crescimento e produção vegetal, interfere nos processos de fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, divisão celular e crescimento das células. Contribui para o crescimento prematuro das raízes, qualidade de frutas, verduras, grãos e formação das sementes. Por interferir em vários processos vitais das plantas, deve haver um suprimento adequado de fósforo desde a germinação, principalmente em plantas de ciclo curto. As plantas quando jovens absorvem maiores quantidades de fósforo ocorrendo um crescimento rápido e intenso das raízes em ambientes com níveis adequados do nutriente. A determinação do fósforo presente na amostra, por espectrofotometria, é baseada na transformação química dessa substância num complexo colorido. Propôs-se neste trabalho o desenvolvimento de um spot test para determinação de fósforo em solo, com quantificação pelo aplicativo Photometrix® em ambiente com luminosidade controlada, utilizando para efeitos de comparação os resultados obtidos na metodologia clássica de análise. A metodologia padrão de análise foi adaptada para o sistema proposto, reduzindo o uso de reagentes em 60%. Obtendo como resultados, excelente exatidão quando comparado com o valor certificado e, desvio padrão relativo de 0,05%, uma linearidade de 0,1-1 mg/L, limite de detecção de 0,02 mg/L e limite de quantificação de 0,03 mg/L. Assim, o uso do spot test associado com a detecção pelo aplicativo Photometrix®, em sistema de luminosidade controlada, mostra ser uma alternativa promissora para medidas de absorbância tradicionais na determinação de fósforo em amostras de solo.

Palavras-chave: Photometrix. Teste quantitativo. Imagem digital.

ABSTRACT

SEVERO, Eduarda Aguita. DEVELOPMENT OF SPOT TEST FOR PHOSPHORUS DETERMINATION IN SOILS WITH DIGITAL IMAGE QUANTIFICATION. 43 f. TCC (Chemistry Degree Course), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Medianeira, 2021.

Soil analyses are done to evaluate the availability of nutrients for plants and the reaction of the soil. It thus serves for the prescription of correctives and fertilizers. In general, plants need 16 elements for proper development and growth. Thirteen of these elements, commonly referred to as nutrients, may be available in the soil or may be complemented by the use of mineral and/or organic fertilizers. Among these elements is phosphorus, which is indispensable for plant growth and production, interfering in the processes of photosynthesis, respiration, energy storage and transfer, cell division and cell growth. It contributes to the premature growth of roots, quality of fruits, vegetables, grains, and seed formation. Because it interferes in several vital processes in plants, there must be an adequate supply of phosphorus from germination, especially in short cycle plants. Plants, when young, absorb larger quantities of phosphorus, and there is a rapid and intense growth of the roots in environments with adequate levels of the nutrient. The determination of the phosphorus present in the sample, by spectrophotometry, is based on the chemical transformation of this substance into a colored complex. In this work, we proposed the development of a spot test for the determination of phosphorus in soil, with quantification by Photometrix® application in an environment with controlled lighting, using the results obtained in the classical methodology of analysis for comparison purposes. The standard analysis methodology was adapted to the proposed system, reducing the use of reagents by 60%. The results obtained were excellent accuracy when compared to the certified value, and a relative standard deviation of 1%, linearity of 0.1-1 mg/L, detection limit of 0.02 mg/L, and quantification limit of 0.03 mg/L. Thus, the use of the spot test associated with detection by the Photometrix application, in a controlled light system, shows to be a promising alternative to traditional absorbance measurements in the determination of phosphorus in soil samples.

Keywords: Photometrix. Quantitative test. Digital image.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 DELIMITAÇÃO DO TEMA	10
1.2 PROBLEMAS E PREMISSAS	11
1.3 OBJETIVOS	12
1.3.1 Geral.....	12
1.3.2 Específicos	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 O SOLO	13
2.1.1 Importância da fertilidade do solo	13
2.1.2 Análises de fertilidade do solo.....	13
2.1.3 Parâmetros químicos de análise da fertilidade do solo	14
2.1.4 A importância do fósforo	15
2.2 PROCEDIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE P EM SOLO	16
2.2.1 Metodologia padrão para determinação de P em solo	16
2.3 ANÁLISES EMPREGANDO SPOT TEST	17
2.4 IMAGENS DIGITAIS	19
2.4.1 Sistema RGB.....	19
2.4.2 Photometrix	22
3 JUSTIFICATIVA	24
4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	26
4.1 Procedimento de Extração e determinação de fósforo do solo.....	26
4.2 Spot test para a determinação de fósforo com detecção por imagem digital por meio do aplicativo Photometrix em extratos de amostras de solo.....	27
4.3 Determinação das Figuras de Mérito.....	29
4.4 Análise Estatística.....	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

A análise química do solo é realizada para avaliar a quantidade de nutrientes e sua disponibilidade para as plantas. Em geral as plantas necessitam de 16 elementos para o desenvolvimento e crescimento adequado. Treze destes elementos, denominados nutrientes, podem estar disponíveis no solo ou podem ser complementados pelo emprego de adubo mineral e/ou orgânico. Entre estes elementos se destaca o fósforo (representado pelo símbolo P) que é indispensável para o crescimento e produção vegetal, devido a importância do P, este deve ser constantemente monitorado, e caso não atinja os níveis necessários deve ser feita sua complementação.

A determinação do fósforo, de acordo com a metodologia padrão, é feita por espectrofotometria molecular na região do visível, que é baseada na transformação química dessa substância num complexo colorido. Alternativamente as medidas espectrofotométricas, para determinação de espécies químicas, pode-se utilizar a análise das imagens digitais processadas por dispositivos, como câmeras digitais, como sinal analítico. Um aplicativo que tem sido comumente utilizado como forma de detecção por imagens digitais é o Photometrix®, uma ferramenta de análise colorimétrica móvel.

Com os avanços tecnológicos foi possibilitado o desenvolvimento de sofisticadas ferramentas analíticas, entre elas o spot test, um dispositivo analítico compacto e que possibilita um menor uso de reagentes, quando comparados aos métodos tradicionais de análises.

1.1 Delimitação do tema

De acordo com os parâmetros estabelecidos foi desenvolvido um spot test para determinação de fósforo em extrato de solo. Após o desenvolvimento do mesmo foram capturadas as imagens por smartphone, empregando o aplicativo Photometrix®, o qual fez a quantificação do sinal analítico.

1.2 Problemas e premissas

A preocupação com questões ambientais tem sido cada vez mais alvo de investigações científicas. Nos últimos anos os limites legais e admissíveis de diversos elementos e espécies químicas no meio ambiente têm sido reavaliados, o que conseqüentemente exige metodologias cada vez mais sensíveis a ponto de determinar níveis muito baixos de concentrações destas espécies com precisão e alta seletividade (LEITE, 2010).

Atualmente tem se buscado a diminuição do tamanho dos sistemas de análises espectrofotométricas a ponto da portabilidade, o que possibilita análises in situ e aquisição de dados em tempo real (STEIMLE, 2002). Entretanto, sistemas espectrofotométricos com dimensão reduzida e com boa precisão ainda possuem um custo relativamente elevado. Uma saída satisfatória nas análises colorimétricas seria a utilização de sistemas com detecção por dispositivos de capturas de imagens digitais (KOMPANY-ZAREH, 2002; WONGWILAI, 2010).

Assim, este trabalho consiste da utilização de duas ferramentas, a utilização de um spot test, que se caracteriza por ser simples (fácil manuseio), sensível e seletivo quanto a detecção e quantificação, quando comparados aos métodos padrões de análise, além de utilizarem pequenos volumes de amostras e reagentes, resultando em menor volumes de resíduos a serem descartados; e a utilização de software livre (Photometrix®), para obtenção dos sinais analíticos por meio de imagens, uma ferramenta de baixo custo e de fácil acesso quando comparada as metodologias clássicas de análise.

A combinação de imagem digital e colorimetria tem oferecido uma rota de alto potencial analítico em processamentos qualitativos e em medidas quantitativas. Isso só foi possível porque, nos últimos anos ocorreram avanços nas tecnologias de fotografia digital, tanto em termos de hardware quanto no desempenho dos softwares, proporcionando o desenvolvimento de equipamentos de baixo custo e melhorias na precisão e no desempenho dos dispositivos de obtenções das imagens (BYRNE, 2000; GAIAO, 2006).

1.3 Objetivos

1.3.1 Geral

Desenvolver um spot test para determinação de P em solo e quantificar o analito por meio do sinal analítico obtido com o aplicativo Photometrix®.

1.3.2 Específicos

- Realizar o procedimento de extração de fósforo da matriz mediante protocolo da Embrapa;
- Determinar a quantidade de fósforo presente pela metodologia padrão;
- Condicionar e calibrar o sistema proposto (Spot Test/ Photometrix®) para as determinações;
- Realizar testes de adição e recuperação de P;
- Comparar os resultados obtidos com a metodologia padrão e com a metodologia proposta.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O SOLO

2.1.1 Importância da fertilidade do solo

Solos são o meio no qual diversas culturas se desenvolvem para alimentar mundo. Entender a fertilidade do solo é compreender a necessidade básica para a produção vegetal. A fertilidade do solo, na agricultura moderna, é parte de um sistema dinâmico. Os nutrientes estão sendo constantemente “exportados” na forma de produtos de plantas e animais, mas podem também serem perdidos por meio de processos como a lixiviação e a erosão (Lopes, 1995).

O solo é fundamental para a vida da planta pois para além de dar suporte em termos de fixação, o mesmo pode reservar água e fornecer nutrientes às plantas. Os solos apresentam diferentes níveis de fertilidade e capacidade de fornecer nutrientes às plantas. Dependendo da cultura a ser implantada, muitas vezes os solos não conseguem fornecer todos os nutrientes necessários, pelo menos não nas quantidades necessárias. Os fertilizantes orgânicos e minerais são usados para suplementar a disponibilidade natural de nutrientes no solo e favorecer o desenvolvimento das plantas (Alcarde et al., 1998; Santos, 1996). Porém, é importante fazer uma distinção entre a função dos fertilizantes orgânicos, chamados também de corretivos orgânicos, e os fertilizantes minerais (inorgânicos). Os inorgânicos destinam-se a fornecer nutrientes às plantas de forma simples e direta. Os orgânicos, além de fornecer nutrientes, podem melhorar as propriedades físicas e biológicas dos solos promovendo, desta forma, o desenvolvimento das plantas, favorecendo ainda mais a absorção dos minerais (Santos, 1996; Alcarde et al., 1998).

A agricultura moderna preconiza a aplicação de insumos, como fertilizantes e corretivos, para minimizar as limitações químicas dos solos e atender às exigências nutricionais das culturas. Assim, o fornecimento de nutrientes para as principais plantas cultivadas no Brasil é efetuado principalmente pela adubação mineral e orgânica (Manzatto et al, 2002).

2.1.2 Análises de fertilidade do solo

A análise química do solo é um dos métodos quantitativos mais utilizados para diagnosticar a fertilidade do solo. Essa situação ocorre devido as seguintes vantagens: possibilidade de automação das análises em laboratório, possibilidade de a partir dos resultados, planejar a recomendação de doses de adubos e corretivos que devem ser aplicados antes da implantação da cultura (Silva et al, 1998).

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

As análises químicas do solo para fins de avaliação de sua fertilidade tiveram grande desenvolvimento no Brasil a partir de 1965. Nessa época, sob a liderança do Dr. Leandro Vettori, foi iniciado o programa denominado "*Soil Testing*", dentro de um convênio entre o Ministério da Agricultura, representado pela então Equipe de Pedologia e Fertilidade do Solo, hoje Centro Nacional de Pesquisa de Solos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Solos), e a Universidade de Carolina do Norte, com o apoio da *United States Agency for International Development* (USAID). Esse programa visava, principalmente, os aspectos de automação, uniformização, experimentação e calibração de métodos para essas análises (Silva et al, 1998).

2.1.3 Parâmetros químicos de análise de fertilidade do solo

As plantas contêm praticamente todos os elementos químicos (92), mas necessita apenas 17 para o crescimento adequado. Treze são elementos nutritivos minerais essenciais comumente denominados de nutrientes. Eles são fornecidos pelo solo e pelo adubo mineral ou orgânico (Manzatto et al, 2002; Varennes, 2003).

Nos tecidos das plantas podem conter uma enorme diversidade de elementos minerais. De acordo com Varennes (2003) os dezessete elementos reconhecidos pela ciência como essenciais às plantas são: carbono (C), oxigênio (O) hidrogênio (H),

azoto (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), molibdênio (Mo), boro (B) e cloro (Cl). Diversos outros elementos podem ter papéis importantes em algumas plantas ou em algumas etapas da vida de uma planta, mas não podem ser considerados essenciais para todas elas. Esses elementos são designados de benéficos ou eventualmente benéficos (Varenes, 2003). Há alguns nutrientes como alumínio (Al), selênio (Se), sódio (Na), silício (Si) e cobalto (Co) que têm efeito benéfico para algumas culturas, mas não são essenciais (Manzatto et al, 2002; Varenes, 2003).

De acordo com Silva (1982) os elementos essenciais são divididos em: macronutrientes principais, sendo aqueles que as plantas absorvem em maior quantidade e que no solo não costumam estar disponíveis em quantidades suficientes para satisfazer as necessidades nutritivas das plantas (N, P e K); macronutrientes secundários, sendo aqueles que mesmo absorvidos em grandes quantidades pelas plantas se admite existirem frequentemente no solo em quantidades suficientes para satisfazer as suas necessidades nutritivas (C, O, H, Ca, Mg e S); e micronutrientes, sendo elementos que são absorvidos pelas plantas em quantidades muito reduzidas (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn, Ni).

2.1.4 A importância do fósforo

A concentração deste elemento na matéria seca foliar varia entre 0,1 e 0,4% m/m. Este elemento é constituinte de vários tipos de compostos entre os quais: os ácidos nucleicos, fosfoproteínas, fosfolípidos, açúcares fosfatados e compostos ricos em energia. Estas substâncias controlam todos os processos de crescimento. É ainda um componente da fitina, forma que acumula P nas sementes. Desempenha um papel de grande importância pois atua especialmente no desenvolvimento do sistema radicular, no afilhamento (germinação) e na formação do grão (SOUSA, 2017).

O fósforo que é indispensável para o crescimento e produção vegetal, interfere nos processos de fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, divisão celular e crescimento das células. Contribui para o crescimento prematuro das raízes, qualidade de frutas, verduras, grãos e formação das sementes. Por interferir em vários processos vitais das plantas, deve haver um suprimento adequado de fósforo desde a germinação, principalmente em plantas de ciclo curto.

As plantas quando jovens absorvem maiores quantidades de fósforo ocorrendo um crescimento rápido e intenso das raízes em ambientes com níveis adequados do nutriente. A erosão é a responsável pelas maiores perdas de fósforo, quando ocorrem perdas de matéria orgânica e partículas coloidais com fósforo (GRANT et al, 2001).

Os solos de textura mais argilosa apresentam maior capacidade de adsorção de fósforo, devido à forte interação entre argilominerais e o nutriente (VALADARES et al, 2003), sendo necessário segundo Broggi (2004) a manutenção dos teores de fósforo, pois o solo passa a estabelecer uma forte concorrência com a planta pelo fósforo disponível.

Devido a importância do fósforo, este deve ser constantemente monitorado, e caso não atinja os níveis necessários deve ser feita sua complementação.

2.2 PROCEDIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO EM SOLO

2.2.1 Metodologia padrão para determinação de fósforo em solo

A determinação do fósforo presente na amostra, comumente é feita por espectrofotometria molecular na região do visível (AOAC,1995; NBR 12772,1992), que é baseada na transformação química dessa substância num complexo colorido (STRICKLAND; PARSONS,1965), e é o procedimento comumente mais utilizado para as análises de fósforo devido sua sensibilidade e menor suscetibilidade a interferentes que coexistam nas amostras de solo analisadas (LEITE, 2010). Métodos de análises químicas baseadas na formação de produtos coloridos a partir da reação de um analito de interesse com um reagente específico tem sido amplamente utilizado, sendo estes denominados de métodos colorimétricos. Sem dúvida, a espectrofotometria na região do visível é a técnica mais aplicada nas análises colorimétricas quantitativas.

Na reação espectrofotométrica, o íon fosfato reage com molibdato em meio ácido, formando um complexo, que após redução com ácido ascórbico, pode ser monitorado espectrofotometricamente em 882 nm (NBR 12772, 1992). Alternativamente as medidas espectrofotométricas, na região do visível, para determinação de espécies químicas, vários trabalhos reportados na literatura vêm utilizando a análise das imagens digitais processadas como sinal analítico (IQBAL E

BJORKLUND, 2011; LAPRESTA-FERNANDEZ e CAPITAN-VALLVEY, 2011; ZAMORA et al, 2011; ANDRADE et al, 2012; JOKERST et al, 2012). Na maioria destes métodos as imagens digitais são capturadas por dispositivos como câmeras digitais e scanner, equipados com sensores do tipo Charge Coupled Devices (CCD) ou Complementary Metal Oxide semiconductor (CMOS) (ANDRADE et al, 2012; WONGWILAI et al, 2010).

2.3 ANÁLISES EMPREGANDO SPOT TEST

Os rápidos avanços tecnológicos e as pesquisas nos campos da espectroscopia, cromatografia e eletroanalítica possibilitaram o desenvolvimento de sofisticadas ferramentas analíticas que, em muitos laboratórios, se tornaram indispensáveis para a implementação de atividades rotineiras. Por outro lado, ao mesmo tempo, foram desenvolvidos dispositivos analíticos compactos e baratos para a avaliação qualitativa ou semiquantitativa do analito, nos quais uma estimativa aproximada possui valor diagnóstico, pelo menos na primeira etapa da análise. A maioria desses dispositivos é focada na aplicação em análises clínicas, monitoramento de espécies de interesse em matrizes ambientais e alimentares. Entre esses dispositivos, os Spot test são os mais difundidos (Jungreis, 2004).

O principal objetivo do Spot test, está no propósito do manuseio de mínimos de volumes, empregando reações químicas (um ou mais reagentes) que apresentam sensibilidade e seletividade adequadas a análise para a detecção de uma dada substância. Se a reação entre o analito (substância alvo) e o reagente for bem-sucedida, é possível identificar o produto formado, na maioria dos casos pela coloração observada, ou a ocorrência de um precipitado, método utilizado para identificar compostos orgânicos e inorgânicos, por procedimentos versáteis e de baixo custo (ZERAİK et al, 2008).

Os spots test são testes qualitativos sensíveis e seletivos baseados em reações químicas que utilizam pequenas quantidades de complexos e reagentes. O objetivo é alcançar a máxima sensibilidade e seletividade com um mínimo de operações físicas e químicas (Jungreis, 2004).

Os rápidos avanços na pesquisa espectral, cromatográfica, nuclear, espectroscópica de massa e eletroanalítica mudaram espetacularmente a química analítica e desenvolveram ferramentas analíticas altamente sofisticadas. Ao mesmo tempo, outro desenvolvimento ocorreu em certas áreas distintas de aplicação, exatamente na direção oposta. Esta é a busca de dispositivos analíticos simples, compactos e baratos para avaliação semiquantitativa de certos elementos ou compostos, em que essa avaliação aproximada resulta em uma primeira etapa de análise (Jungreis, 2004).

Os principais fabricantes desses dispositivos concentraram seus esforços principalmente em áreas, como análises clínicas, testes forenses, testes de controle de qualidade (CQ) do ar e da água e testes de CQ de solo e alimentos (Jungreis, 2004).

Deve-se enfatizar que a aplicabilidade da metodologia de spot test é limitada e, para a determinação exata de substâncias químicas, procedimentos analíticos complexos são inevitáveis. Embora os resultados do uso destes testes sejam relativos, esta relatividade, no entanto, é bastante significativa.

De acordo com a literatura, provavelmente, o primeiro registro da utilização de spot test para fins analíticos foi datado em 1834, quando Runge desenvolveu um teste para detecção de cloreto em solução de alvejante (FEIGL e ANGER, 1972). O teste era baseado na formação de uma mancha azul em um papel de filtro previamente impregnado com amido e iodeto de potássio. Mais tarde, em 1854, Schiff, desenvolveu um teste para detectar ácido úrico na urina pela formação de uma mancha marrom em um papel de filtro impregnado com carbonato de prata (FEIGL e ANGER, 1972).

No entanto, o interesse da comunidade científica pelo uso de spot test em análise química qualitativa, se tornou expressivo, a partir das pesquisas feitas por Fritz Feigl que, inicialmente foram dedicadas às reações inorgânicas e posteriormente às reações orgânicas. (HAINBERGER, 1982).

Na literatura são reportados muitos spots test aplicados em análises quantitativas e, na maioria, a leitura é feita por espectrofotometria de reflectância difusa (TUBINO, 1997; GHAUCH, 2000; MATIAS, 2004; TUBINO, 2010; LIMA, 2012; LUIZ, 2012). Entretanto, são reportados na literatura trabalhos envolvendo conceitos de spot test em dispositivos baseados em papel que utilizam imagens digitais obtidas

por scanner na leitura da cor (PACIORNIK, 2006; ABE, 2008; CARRILHO, 2009; ANWAR, 2010; SHIHANA, 2010).

Nos trabalhos que utilizam spot test quantitativos associados a imagens digitais, os autores (PACIORNIK, 2006; ABE, 2008; CARRILHO, 2009; ANWAR, 2010; SHIHANA, 2010) destacam que as vantagens de utilizar scanner ou câmera digital, em relação ao espectrofotômetro, é o baixo custo e a maior portabilidade.

Embora as primeiras pesquisas acerca de spot test já terem atravessado séculos, o tema ainda é bastante atual e desperta na comunidade científica bastante interesse, principalmente, devido a sua simplicidade e o baixo consumo de reagentes.

2.4 IMAGEM DIGITAL

O interesse no potencial das imagens digitais aumentou significativamente na última década, e suas aplicações permeiam quase todos os campos da atividade humana. Na medicina, o uso de imagens no diagnóstico médico se torna rotineiro. Na biologia, a capacidade de processar automaticamente imagens obtidas de microscópios, por exemplo, contar o número de células de um determinado tipo presente em uma imagem facilita muito a execução de tarefas de laboratório com alto grau de precisão e repetibilidade. O processamento e a interpretação automática de imagens capturadas em satélites auxiliam nas tarefas de geografia, sensoriamento remoto, geoprocessamento e meteorologia, entre outras. Inúmeras áreas, como industrial, agrícola, astronomia, entre outras, foram beneficiadas pelos avanços no processamento de imagens. Como alternativa aos instrumentos tradicionais de análise colorimétrica, o emprego de scanner, webcam ou câmeras digitais para capturar imagens coloridas tem sido uma alternativa potencial em procedimentos analíticos qualitativos e / ou quantitativos (BYRNE et al., 2000; PAPADAKIS et al, 2000; KATHERINE et al, 2006; SACHS et al., 2002).

2.4.1 Sistema RGB

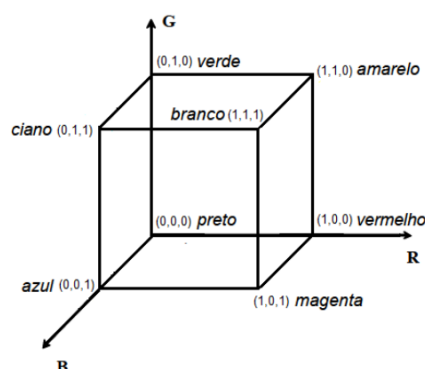
A cor é uma percepção sensorial oriunda dos estímulos que a luz em determinados comprimentos de ondas provoca na retina do observador (GILCHRIST e NOBBS, 1999; BRAINARD, 2008; CONWAY, 2009). Na interação entre a energia

luminosa e o meio material, a luz que chega ao observador dando a percepção de cor, é originada de processos aditivos, subtrativos e pigmentação. No processo aditivo o raio luminoso é formado pela combinação de dois ou mais raios luminosos com diferentes comprimentos de ondas, no subtrativo o raio luminoso é aquele que não foi absorvido quando diferentes raios luminosos são transmitidos através de um filtro. No processo por pigmentação os pigmentos podem absorver refletir ou transmitir a radiação luminosa (Santos, 2013).

Em 1931 a comissão internacional de iluminação (CIE-Commission internationale de l'Éclairage) criou um modelo matemático chamado CIE-RGB que utiliza as cores primárias vermelha (R-red), verde (G-green) e azul (B-blue), no qual a partir das diferentes possibilidades de combinações aditivas dessas cores são representadas todas as outras cores do espectro visível (POYNTON, 2003). Com esse modelo foi possível medir quantitativamente as cores e representá-las numericamente, dando os alicerces para os estudos de colorimetria (GILCHRIST e NOBBS, 1999).

O modelo RGB é representado por um cubo em coordenadas cartesianas, onde cada cor primária representa um dos eixos e assumem valores finitos que variam de zero (0) a um (1). Onde, o valor um (1) corresponde à intensidade máxima com que a cor primária pode ser representada no gráfico e o valor zero (0) à intensidade mínima (Santos, 2013) (FIGURA 1).

Figura 1 - Cubo do modelo de cores RGB.



Fonte: Santos, 2013

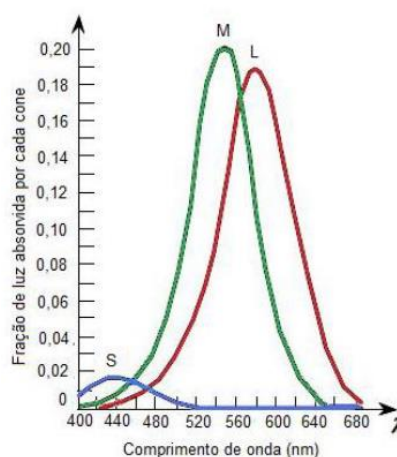
Na literatura, vários estudos vêm sendo publicados, empregando imagens digitais, obtidas por webcam, scanner, câmera digital e telefones com câmera na

determinação de concentrações de espécies químicas de interesse em várias matrizes (MARTINEZ et al, 2008; SOLDAT et al, 2009; KOMPANY-ZAREH et al, 2002; PACIORNIK et al, 2006; YANG et al, 2007; WONGWILAI et al, 2010; IQBAL et al, 2011; LAPRESTA-FERNANDEZ A. et al, 2011), mas esse campo analítico ainda é passível de pesquisa e de desenvolvimento. Sachs et al. (2002), desenvolveram um aplicativo para ler, pixel por pixel, as cores de uma área pré-selecionada de uma imagem, digitalizada em condições padrão e converter a área selecionada em conjuntos de valores médios nas três cores básicas, vermelho, verde e azul sistema (RGB).

Martinez et al (2008) desenvolveram um método colorimétrico para a determinação simultânea de glicose e proteína na urina. No sistema proposto, utilizou-se um dispositivo microfluídico baseado em papel (dispositivo microfluídico papel- μ PAD) e os resultados foram obtidos a partir de imagens digitais μ PAD. Neste estudo, os pesquisadores usaram pequenos volumes de amostra (5 μ L) e avaliaram as imagens obtidas por scanner de mesa, scanner portátil, câmera digital e dois tipos de telefones. A possibilidade de desenvolver procedimentos para determinação simultânea quantitativa em microescala de várias espécies de interesse tornou-se os métodos por imagens digitais muito atrativos do ponto de vista analítico (SOLDAT 2009).

Segundo a teoria de Young-Helmoltz, o olho humano percebe a cor através do estímulo de diferentes pigmentos visuais presentes em cada um dos três cones da retina, S (short)? M (medium) e L (long), que possuem respectivamente sensibilidade máxima para os comprimentos de ondas em torno de 430 nm (azul), 530 nm (verde) e 630 nm (vermelho) (FIGURA 2) (BRAINARD, 2001). Os bastonetes, outra foto sensor também presente na retina, não são sensíveis à cor, porém são sensíveis a intensidade luminosa (CONWAY, 2009).

Figura 2 - Sensibilidade dos cones da retina em função do comprimento de onda.



Fonte: BRAINARD, 2001

Os comprimentos de ondas compreendidos entre 400 e 680 nm são detectados pelos três tipos de cones, mas cada cone detecta um determinado comprimento de onda com uma sensibilidade diferente, dando origem a impulsos nervosos com intensidades diferentes (FAIRCHILD, 2010). A luz com comprimento de onda de 500 nm corresponde à sensibilidade máxima dos cones do tipo S, M e L em cerca de 20%, 30% e 10% respectivamente, provocando a sensação da cor ciano. Para um comprimento de onda de 550 nm, as sensibilidades são de 0%, 99% e 80% respectivamente, dando a sensação da cor amarela (Santos, 2013).

As diferenças entre as respostas dos três tipos de cones permitem o cérebro interpretar um determinado comprimento de onda como uma determinada cor. Qualquer comprimento do espectro visível pode ser reproduzido como cor, através da adição dos resultados obtidos pelos diferentes estímulos dos três tipos de cones. A cor percebida pelo observador depende somente da relação entre os três estímulos (SHAPLEY e HAWKEN, 2002).

2.4.2 Photometrix

Um aplicativo que tem sido comumente utilizado como forma de detecção por imagens digitais é o Photometrix®, uma ferramenta de análise colorimétrica móvel. O aplicativo, utiliza as técnicas de correlação linear simples para análise univariada e análise de componentes principais (PCA) para análise exploratória multivariada. Os dados da imagem são capturados pela câmera principal do dispositivo (smartphone)

e convertidos em histogramas vermelho, verde e azul (RGB), a partir dos quais são obtidos valores numéricos de acordo com a intensidade da cor, e estes são usados para os cálculos de concentração (HELPER, 2017).

3 JUSTIFICATIVA

O crescente emprego de imagens digitais em trabalhos científicos, está relacionado a rápida evolução da eletrônica, o desenvolvimento de programas dedicados a análise de imagens e os baixos custos envolvidos. A combinação da aquisição da imagem digital com o estudo das cores digitalizadas, surge como alternativa quantitativa para procedimentos que envolvam reações químicas com geração de cor. A evolução da informática também proporcionou a criação de programas matemáticos de alto desempenho que facilitaram a interpretação e manipulação das imagens, que associados a ferramentas estatísticas permitem correlacionar as informações armazenadas digitalmente as propriedades físico-químicas de uma amostra.

O armazenamento da informação (cores, formas e intensidade) pode ser realizado de diferentes formas, porém um dos padrões mais comuns é o RGB. Este padrão permite a quantificação de três cores primárias (R = vermelho, G = verde e B = azul) que combinadas formam todas as cores do espectro visível. De modo análogo a espectrofotometria de absorção molecular é possível empregar as informações de cor das imagens digitais para qualificar ou quantificar as propriedades de absorção de cor dos compostos cromóforos.

Os solos são essenciais a vida humana, dele provém toda a alimentação e elementos necessários para a sobrevivência, sendo assim, é importante mantê-lo fértil e em potencial desenvolvimento, sendo fundamental para a vida da planta pois para além de dar suporte em termos de fixação, o mesmo pode reservar água e fornecer nutrientes às plantas. Os solos apresentam diferentes níveis de fertilidade e capacidade de fornecer nutrientes às plantas, sendo assim, de uma maneira geral nenhum solo consegue fornecer todos os nutrientes nas quantidades necessárias para o ótimo desenvolvimento da planta. Por isso, são necessárias as análises de fertilidade do solo e entender o que é a fertilidade do solo é compreender a necessidade básica para a produção vegetal.

As análises de fertilidade do solo têm o intuito de determinar os componentes e elementos presentes no solo, sendo dessa forma possível, de acordo com a cultura a ser implantada recomendar doses de fertilizantes e adubos, resultando em maior produtividade. Porém essas medidas em laboratórios têm custos bastante elevados,

desta forma ficando inacessível muitas vezes ao pequeno agricultor; e muitas vezes os resultados destas análises demoram alguns dias para ficarem prontos, que pode resultar na demora da implantação da cultura ou na implantação da mesma sem as correções necessárias a serem realizadas.

Este projeto propõe realizar medidas qualitativas e/ou quantitativas de reações químicas, que absorvam comprimentos de onda na região do visível do espectro eletromagnético, empregando imagens digitais. Para tanto, analitos como o fósforo, em amostras de solo, serão estudados e os resultados comparados a procedimentos convencionais de análise.

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

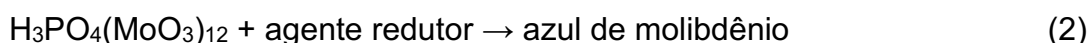
4.1 Procedimento de Extração e determinação de fósforo do solo.

Para realização da extração de fósforo de uma amostra de solo padrão (n=7), foi utilizado o protocolo proposto pela EMBRAPA (2011).

A solução extratora de Mehlich 1, também chamada de solução duplo-ácida ou de Carolina do Norte, é constituída por uma mistura de HCl 0,05M + H₂SO₄ 0,0125M. O emprego dessa solução como extratora de fósforo, potássio e micronutrientes do solo baseia-se na solubilização desses elementos pelo efeito de pH, entre 2 e 3, sendo o papel do Cl⁻ o de restringir o processo de readsorção dos fosfatos recém-extraídos. Para os micronutrientes a relação solo:extrator sugerida é de 1:5, enquanto para os demais elementos é de 1:10 (SILVA et al, 1998). Para extração de fósforo foi utilizada a relação solo:extrator de 1:10 (1 g de solo para 10 ml de extrator).

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

O método da AOAC (1995) o qual foi usado como referência para o método proposto é um dos mais recomendados para a determinação de fósforo e consiste na formação do ácido molibdofosfórico (equação 1) que por redução produz um complexo de coloração azul (equação 2). O agente redutor empregado é o ácido ascórbico.



A metodologia de referência utiliza-se do espectrofotômetro que mede a absorbância de um feixe de luz num determinado comprimento de onda após atravessar a solução numa cubeta de quartzo, vidro ou acrílico. Com a relação da absorbância e concentração da solução, por intermédio de uma série de diluições

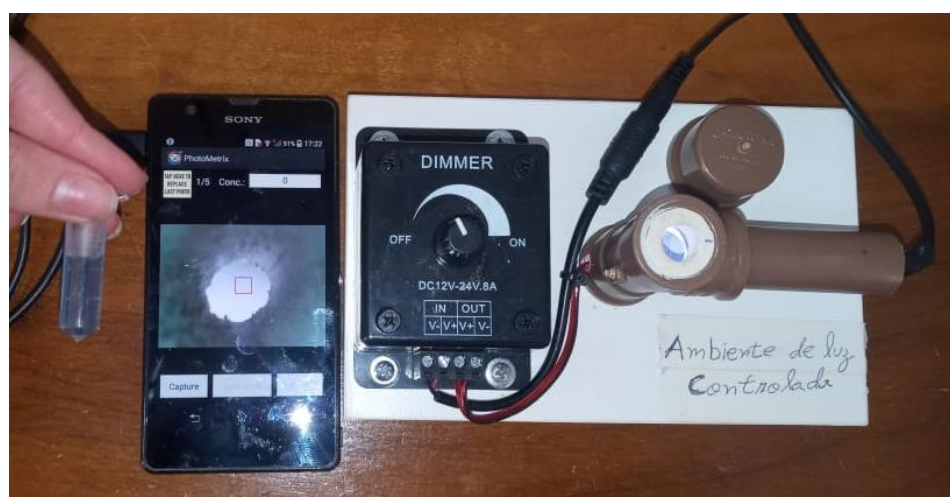
obtidas a partir de solução padrão, pode-se determinar de maneira satisfatória uma curva relacionando a concentração com a absorbância (LEITE, 2010).

4.2 Spot test para a determinação de fósforo com detecção por imagem digital por meio do aplicativo Photometrix em extratos de amostras de solo.

Na determinação de fósforo em amostras de solo em spot test, foi utilizada a metodologia descrita pela NBR 12772 (1992), na qual a única diferença da metodologia da AOAC (1995), é que o ácido ascórbico também está em solução, sem alterações nas equações 1 e 2.

Para a metodologia proposta, foi utilizado um sistema desenvolvido por Leandro Rosar (2020), aluno do Mestrado Profissional em Química em Rede Nacional – PROFQUI, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Câmpus Medianeira, o sistema possui controle de luminosidade (controlado por um dimmer) para obtenção das imagens, uma câmera endoscópica com saída USB conectada a um smartphone, este com acesso ao aplicativo Photometrix® (Figura 3).

Figura 3 – Sistema proposto para obtenção das medidas empregando spot test e detecção por imagem digital.



Fonte: O autor.

O aplicativo foi utilizado para obtenção da curva de calibração, valores de RGB da amostra e quantificação das concentrações de fósforo nas amostras de extrato de solo.

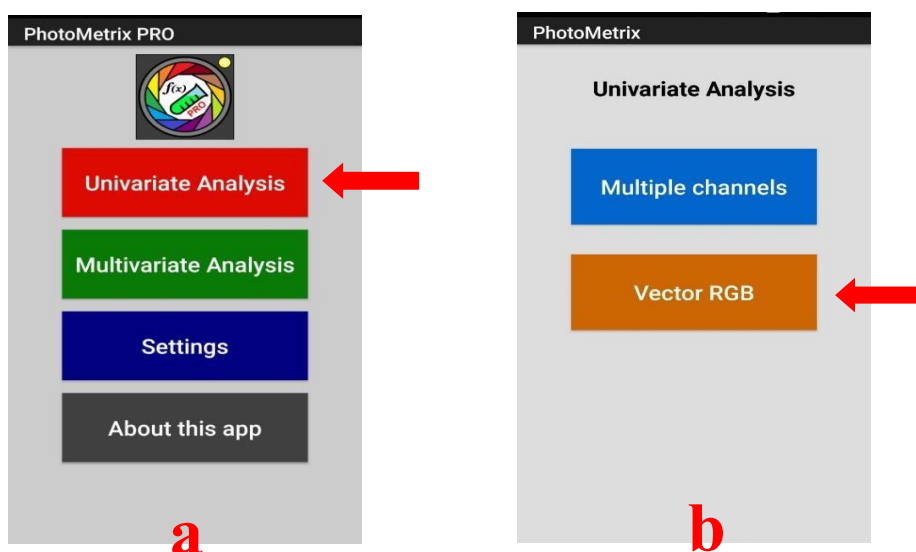
O aplicativo em suas duas versões (Photometrix PRO e UVC®) utiliza como idioma padrão a língua inglesa, em sua interface principal em ambas as versões (Figura 4 (a)), incluem opções de análise univariada (do Inglês, Univariate Analysis), análise multivariada (do Inglês, Multivariate Analysis), configuração (do Inglês, Settings) e informações sobre o aplicativo (do Inglês, About this app).

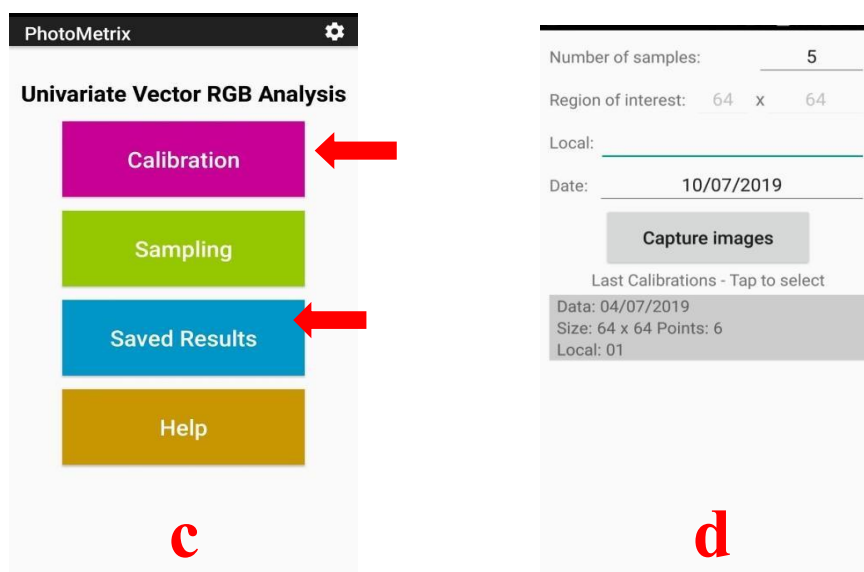
Na análise univariada (do Inglês, Univariate Analysis) (Figura 4 (b)), utilizada neste trabalho, permite ao usuário escolher entre duas opções múltiplos canais (do Inglês, Multiple channels) e vetor RGB (do Inglês, Vector RGB), após escolher a opção mais adequada a análise pretendida, no caso a opção utilizada foi o de vetor RGB (do Inglês, Vector RGB) temos (Figura 4 (c)) como executar as opções de calibração (do Inglês, Calibration), amostragem (do Inglês, Sampling), abrir os resultados salvos anteriormente (do Inglês, Saved Results) ou ajuda (do Inglês, Help).

Ao acessar a opção calibração (do Inglês, Calibration), o usuário deve incluir o número de padrões (do Inglês, Number of samples), desejados para a construção da curva analítica (Figura 4 (d)). Posteriormente, o usuário deve indicar a concentração dos padrões a serem medidos, para então realizar a medida colorimétrica da solução.

Finalizadas as medidas individuais de cada padrão, o aplicativo lista os resultado para a calibração linear obtidas com o vetor RGB. A curva pode ser enviada por e-mail para o usuário.

Figura 4: Interface Principal do Aplicativo (a), Análise Univariada - Opções (b), Análise Univariada Vetor RGB (c) e Modo de Calibração do Aplicativo (d).





Fonte: O autor.

Utilizando o sistema e o aplicativo Photometrix®, a metodologia descrita pela NBR 12772 (1992), foi adaptada, utilizando 0,2 ml de reagente combinado e 1 ml de amostra.

4.3 Determinação das Figuras de Mérito

A linearidade de um método expressa a faixa na qual o sinal analítico, denominado variável dependente (y), é linearmente proporcional à sua concentração, denominada variável independente (x), e a equação matemática que descreve esta dependência é conhecida como curva analítica ou curva de calibração (DRAPER et al, 1981).

A sensibilidade de um método é definida pelos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). O LD é a menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada pela técnica instrumental, enquanto o LQ é a mais baixa concentração que pode ser quantificada dentro dos limites de precisão e exatidão do método durante as operações de rotina do laboratório, em condições usuais (RIBEIRO et al, 2007).

Sendo o LD em termos de sinal, calculado pela equação 3 e LQ em termos de sinal calculado pela equação 4:

$$LD = X + 3S_{bco} \quad (3)$$

$$LQ = X + 10S_{bco} \quad (4)$$

Onde, X é o sinal médio obtido do branco e S_{branco} é o desvio padrão amostral do branco com $n=10$.

A estimativa do sinal analítico a partir da equação de regressão apresenta um erro padrão, e o produto deste erro pelo valor apropriado de t da distribuição de Student (BOX et al, 2005), permite calcular o intervalo de confiança da curva analítica.

O termo precisão fornece a dispersão dos valores medidos em torno de um valor médio, e seu valor numérico é estimado pelo desvio padrão relativo (DPR), para análises de amostras contendo a mesma quantidade das espécies de interesse (RIBEIRO et al, 2007). O DPR ainda conhecido como CV (coeficiente de variação), ou ainda pela sigla RSD proveniente do inglês "*relative standard deviation*" e seu cálculo é realizado como descrito na equação 5.

$$\text{DPR} = 100S/X \quad (5)$$

Onde, X é o valor médio obtido das amostras e S é o desvio padrão amostral.

A exatidão reflete a proximidade entre o valor medido e um valor de referência considerado verdadeiro, e relaciona-se com o erro absoluto de uma medida. Pode ser estimada de duas formas: aplicando-se a metodologia proposta em uma substância de pureza conhecida, como por exemplo, padrões certificados; ou pela comparação com os resultados obtidos utilizando-se uma segunda metodologia, que seja bem estabelecida e com exatidão e precisão conhecidas (RIBEIRO et al, 2007). Para cálculo da exatidão utiliza-se a equação 6.

$$\text{Exatidão} = (X/X_t) * 100 \quad (6)$$

Onde, X é o valor médio obtido das amostras e X_t é o valor teórico das amostras.

O ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para validação de processos analíticos. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois reflete a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra. A exatidão é expressa como erro sistemático percentual, inerente ao processo (BRITO et al, 2003).

O estudo da recuperação consiste na "fortificação" da amostra, ou seja, na adição de soluções com diferentes concentrações do analito de interesse seguida pela determinação da concentração do analito adicionado (BRITO et al, 2003). Calcula-se a quantidade percentual recuperada por meio da equação 7.

$$\text{Recuperação (\%)} = [(\text{valor obtido} - \text{valor real}) / \text{valor real}] * 100 \quad (7)$$

4.3 Análise Estatística

A análise dos dados foi feita utilizando o editor de planilhas do pacote Office, da Microsoft, o Excel.

Para avaliar a exatidão e precisão (equações 5 e 6) do procedimento proposto, foram realizadas determinações ($n=7$) de uma amostra certificada de solo (Embrapa Solo) contendo $16,4 \pm 0,2$ mg/dm³ de fósforo. Sendo as determinações com diminuição proporcional dos volumes de amostra e reagente obedecendo a NBR 12772 (1992).

As análises de adição e recuperação foram realizadas adicionando padrões de 0,3 e 0,6 mg/L de fósforo as amostras, e após a realização das medidas por meio do sistema proposto foi calculada a recuperação por meio da equação 7.

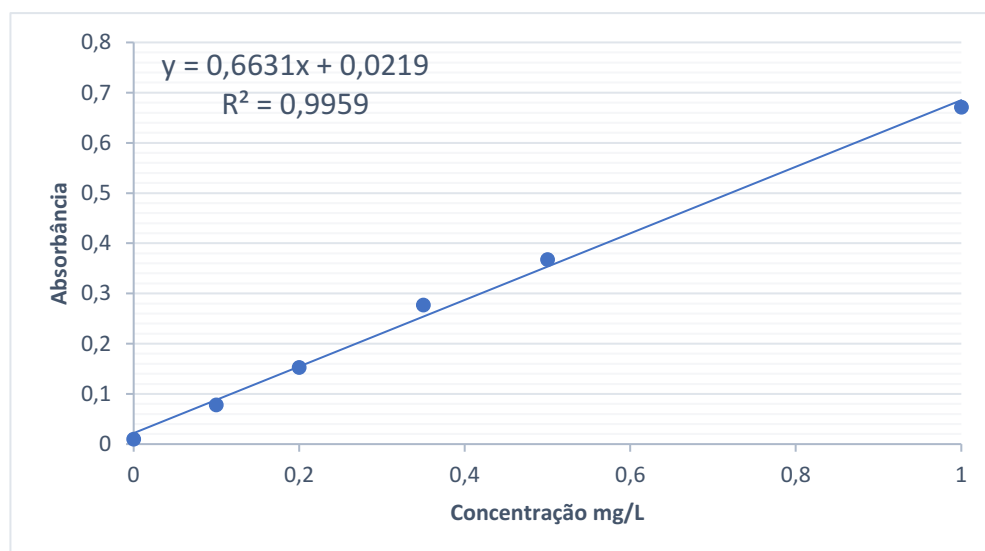
As figuras de mérito foram obtidas por meio da curva de calibração e pelas equações 3 e 4.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Comparando os volumes empregados no método clássico de análise, obteve-se uma diminuição de 60% no volume do reagente combinado quando utilizado o Spot Test.

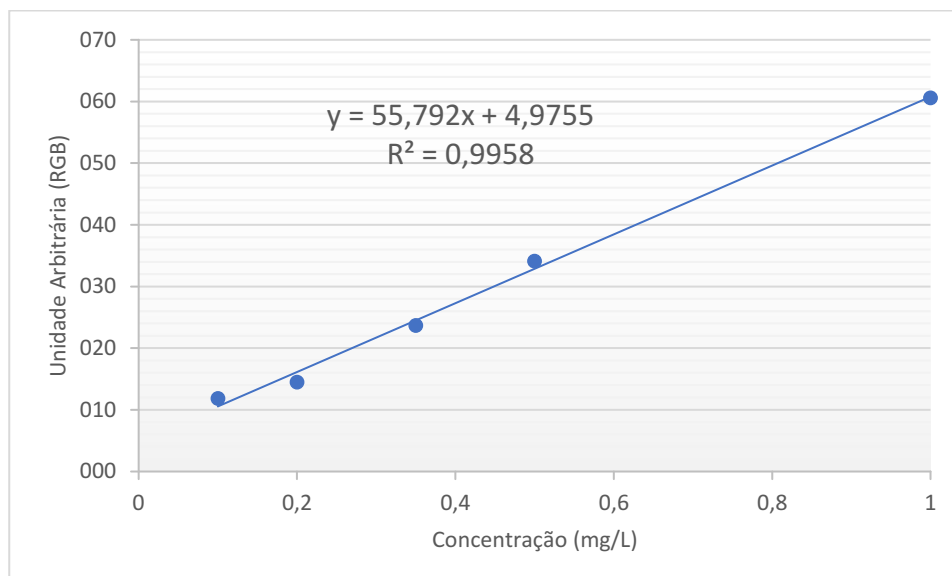
Nas figuras 4 e 5 são apresentadas curvas analíticas obtidas para determinação de fosfato no intervalo de concentração entre 0,1 a 1 mg/L empregando medidas espectrofotométricas (Figura 5) e, empregando Spot Test com detecção por imagens digitais (procedimento proposto) (Figura 6).

Figura 5. Curva de calibração para determinação de PO_4^{3-} no intervalo de concentração entre 0,1 a 1 mg/L, com detecção espectrofotométrica em 882 nm



Fonte: O autor.

Figura 6. Curva de calibração para determinação de PO_4^{3-} no intervalo de concentração entre 0,1 a 1 mg/L, empregando o Spot Test com detecção por imagem digital via aplicativo Photometrix.



Fonte: O autor.

Avaliando as curvas de calibração, foram obtidos excelentes coeficientes de correlação ($R^2 = 0,9959$ e $R^2 = 0,9958$) para as determinações espectrofotométricas e por imagem digital, respectivamente.

Os resultados obtidos para avaliar a exatidão e precisão do procedimento proposto estão apresentados na Tabela 1.

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

Solo Certificado $16,4 \pm 0,2$ P mg/dm ³	Metodologia de Referência AOAC(1995) P mg/dm ³	Sistema Proposto Spot Test/Imagem Digital P mg/dm ³
Determ. 1	16,6	16,2
Determ. 2	16,4	16,1
Determ. 3	16,1	16,1
Determ. 4	16,5	16,1
Determ. 5	16,2	16,1
Determ. 6	16,5	16,2
Determ. 7	16,2	16,2
Média±S	$16,4 \pm 0,19$	$16,1 \pm 0,05$
DPR	1,16	0,33
Exatidão	99,7%	98,4%

Fonte: O autor.

Analisando os resultados médios obtidos ($16,4 \pm 0,19$ e $16,1 \pm 0,05$ mg/dm³) não foi observada diferença significativa entre os mesmos e mediante aplicação do teste t pareado obteve-se um nível de confiança de 95%. O valor obtido com o procedimento proposto apresentou excelente exatidão e desvio padrão relativo, quando comparado com o valor certificado e, desvio padrão amostral de 0,05%.

Os testes de adição e recuperação realizados com a metodologia proposta, obtiveram recuperações entre 89 e 94%.

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

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

Figuras de mérito	
Linearidade	0,1 – 1 mg/L
Limite de detecção (L.D)	0,016 mg/L
Limite de quantificação (L.Q.)	0,027 mg/L

Fonte: O autor.

Dessa forma para a metodologia proposta foi obtida um limite de quantificação de 0,02 mg/L, sendo esta portanto, a menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada, e um limite de quantificação de 0,03mg/L, que é a mais baixa concentração que pode ser quantificada dentro dos limites de precisão e exatidão estabelecidos para a metodologia proposta de análise.

Devido a simplicidade e ao baixo custo da metodologia proposta, quando comparado a metodologia padrão que demanda o uso de uma quantidade maior de reagentes e de espectrofotômetro, o spot test associado a imagens digitais pode ser aplicado em análises de rotina.

Outra vertente para aplicação da metodologia proposta é na própria sala de aula, nas aulas de química por exemplo, uma disciplina que as vezes requer muitos equipamentos para se conseguir fazer uma aula prática, porém sabemos que não são todas as escolas que tem laboratórios de química equipados, desta forma o sistema com controle de luminosidade (que possui um baixo custo quando comparado aos equipamentos que muitas vezes são necessários para análises), juntamente com o spot test (que utiliza menos reagentes que as reações propostas nas metodologias

padrões) e o Photometrix (um software livre) é uma junção de ferramentas que pode auxiliar muito quando não se tem muitos recursos.

Além disso o uso do spot test devido a minimização do consumo de reagentes, resulta na mínima geração de resíduos e na facilidade no tratamento destes.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O procedimento de extração de solo foi realizado pelo método da Embrapa (2011) utilizando 1 g de solo para 10 ml da solução extratora, os extratos de solo foram utilizados para a determinação de fósforo pela metodologia padrão e pela proposta, sendo que os resultados obtidos com o sistema proposto ficaram em acordo com os obtidos por detecção espectrofotométrica (metodologia padrão), com um nível de confiança de 95%.

O sistema de iluminação controlada foi condicionado para a utilização do spot test, sendo feita a calibração do sistema por meio do aplicativo Photometrix® que obteve uma curva de calibração com coeficiente de correlação (R^2) de 0,9958.

Foram realizados testes de adição e recuperação com as amostras, obtendo recuperações de 89 a 94%.

Desta forma, o uso de dispositivos que utilizam menos reagentes como o spot test, que foi utilizado na metodologia proposta, associado com a detecção por imagem utilizando o aplicativo Photometrix, em sistema de luminosidade controlada, mostrou ser uma alternativa promissora para medidas de absorbância tradicionais na determinação de fósforo em amostras de solo quando comparado os resultados com a metodologia padrão.

REFERÊNCIAS

ABE K., SUZUKI K. e CITTERIO D. Inkjet-printed microfluidic multianalyte chemical sensing paper. *Analytical Chemistry*, v. 80, n. 18, p. 6928-34, 2008.

ALCARDE, J. C., GUIDOLIN, J. A., & LOPES, A. S. (1998). Os adubos e a eficiência das adubações. São Paulo: ANDA.

ANDRADE S. I. E., LIMA M. B., BARRETO I. S., LYRA W. S., ALMEIDA L. F., ARAÚJO M. C. U. e SILVA E. C. A digital image-based flow-batch analyzer for determining Al(III) and Cr(VI) in water. *Microchemical Journal*, v. n. 0, p., 2012.

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

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

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

BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S.; HUNTER, W. G. *Statistics for Experimenters, Design, Innovation and Discovery*. Ed. John Wiley & Sons. USA. 2nd ed. 2005. p. 46.

BRAINARD D. H.; *Color Vision Theory*. In: J. S. Editors-in-Chief: Neil e B. B. Paul (Ed.). *International Encyclopedia of the social & Behavioral Sciences*. Oxford: Pergamon, 2001. p. 2256-2263.

BRAINARD D. H., WILLIAMS D. R. e HOFER H. Trichromatic reconstruction from the interleaved cone mosaic: Bayesian model and the color appearance of small spots. *J Vis*, v. 8, n. 5, p. 15 1-23, 2008.

BRITO, N. M.; AMARANTE JR., O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. *Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, Curitiba. v. 13. p. 129-146. 2003

BROGGI, F. Adsorção e disponibilidade de fósforo em solos com diferentes composições mineralógicas. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife. 2004.

BYRNE, L.; BARKER, J.; PENNARUN-THOMAS, G.; DIAMOND, D.; EDWARDS, S. Digital imaging as a detector for generic analytical measurements. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 19, n. 8, p. 517-522, 2000.

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

CONWAY B. R. Color vision, cones, and color-coding in the cortex. *Neuroscientist*, v. 15, n. 3, p. 274-90, 2009.

DRAPER, N. R.; SMITH, H.. *Applied Regression Analysis*. 2nd ed. Ed. John Wiley & Sons. New York. 1981.

FAIRCHILD M. D. Color appearance models and complex visual stimuli. *Journal of Dentistry*, v. 38, n. p. E25-E33, 2010.

FEIGL, F.; ANGER, V. *Spot tests in Inorganic Analysis*. 6th ed. Amsterdam. Elsevier, 1972.

FEIGL F. e ANGER V . Chapter 1 - Development, Present State and Prospects of Inorganic Spot Test Analysis¹. In: (Ed.). *Spot Tests in Inorganic Analysis (Sixth Edition)*. Amsterdam: Elsevier, 1972. p. 1-30.

GAIAO E. N., MARTINS V. L., LYRA W. S., ALMEIDA L. F., SILVA E. C. e ARAÚJO M. C. U. Digital image-based titrations. *Analytica Chimica Acta*, v. 570, n. 2, p. 283- 290, 2006.

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

GILCHRIST A. e NOBBS J.; Colorimetry, Theory. In: L. Editor-in-Chief: John (Ed.). Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Second Edition). Oxford: Academic Press, 1999. p. 380-385.

GRANT, C. A.; FLATEN, D. N.; TOMASIEWICZ, D. J.; SHEPPARD, S. C. A IMPORTÂNCIA DO FÓSFORO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DA PLANTA. 2001. POTAFOS. Disponível em: <[http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/43C5E32F5587415C83257AA30063E620/\\$FILE/Page1-5-95.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/43C5E32F5587415C83257AA30063E620/$FILE/Page1-5-95.pdf)>. Acesso em mai, 2021.

HAINBERGER S.J.L. A vida e a obra de Fritz Feigl. Química Nova, v. n. p., 1982.

HELPER, Gilson A. et al . PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices. J. Braz. Chem. Soc. São Paulo. v.28. n.2. p.328-335. 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532017000200328&lng=en&nrm=iso>. Acesso em mai, 2021.

IQBAL Z. e BJORKLUND R. B. Assessment of a mobile phone for use as a spectroscopic analytical tool for foods and beverages. International Journal of Food Science and Technology, v. 46, n. 11, p. 2428-2436, 2011.

JOKERST J. C., ADKINS J. A., BISHA B., MENTELE M. M., GOODRIDGE L. D. e HENRY C. S. Development of a Paper-Based Analytical Device for Colorimetric Detection of Select Foodborne Pathogens. Analytical Chemistry, v. 84, n. 6, p. 2900-2907, 2012.

JUNGREIS E. Spot test analysis: Clinical, environmental, forensic, and geochemical applications. New York: Wiley 1997 377 p. ESPINOLA A. Fritz Feigl: sua obra e novos campos tecno-científicos por ela originados. Química Nova, v. 27, n. p. 169-176, 2004.

KATHERINE, Leo'n; DOMINGO, Mery; FRANCO, Pedreschi; JORGE, Leo'n. Food Research International 39 (2006) 1084–1091.

KOMPANY-ZAREH M., MANSOURIAN M. e RAVAAEE F. Simple method for colorimetric spot-test quantitative analysis of Fe (III) using a computer controlled hand-scanner. Analytica Chimica Acta, v. 471, n. 1, p. 97-104, 2002;

LAPRESTA-FERNANDEZ A. e CAPITAN-VALLVEY L. F. Environmental monitoring using a conventional photographic digital camera for multianalyte disposable optical sensors. *Analytica Chimica Acta*, v. 706, n. 2, p. 328-337, 2011.

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

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

LOPES, A. S. Manual Internacional de Fertilidade do Solo. 2ª edição. 1995. Disponível em:
<[http://brasil.ipni.net/ipniweb/region/brasil.nsf/0/40A703B979D0330383257FA80066C007/\\$FILE/Manual%20Internacional%20de%20Fertilidade%20do%20Solo.pdf](http://brasil.ipni.net/ipniweb/region/brasil.nsf/0/40A703B979D0330383257FA80066C007/$FILE/Manual%20Internacional%20de%20Fertilidade%20do%20Solo.pdf)>. Acesso em mai, 2021.

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

MANZATTO, C. V.; FREITAS JUNIOR, E. de; PERES, J. R. R. USO AGRÍCOLA DOS SOLOS BRASILEIROS. 2002. EMBRAPA SOLOS. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/solos/busca-de-publicacoes/-/publicacao/328096/uso-agricola-dos-solos-brasileiros>>. Acesso em: mai, 2021

MARTINEZ A. W., PHILLIPS S. T., CARRILHO E., THOMAS S. W., 3RD, SINDI H. e WHITESIDES G. M. Simple telemedicine for developing regions: camera phones and paper-based microfluidic devices for real-time, off-site diagnosis. *Analytical Chemistry*, v. 80, n. 10, p. 3699-707, 2008;

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

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

PAPADAKIS, S. E., ABDUL-MALEK, S., KAMDEM, R. E., YAM, K. L. (2000). A versatile and inexpensive technique for measuring color of foods. *Food Technology*, 54(12), 48–51,

POYNTON C.; 21 - The CIE system of colorimetry. In: (Ed.). *Digital Video and HDTV*. San Francisco: Morgan Kaufmann, 2003. p. 211-231.

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

RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R.; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Quim. Nova*. Vol. 31. n. 1. p.164-171. 2008.

SACHS, L.G.; PORTUGUAL, A.P.; PRUDENCIO-FERREIRA, S.H.; FELINTO, A.S. Conversor em cor média RGB para imagens BMP. Disponível em: <www.fflam.br>. 2002.

SANTOS, J. Q. (1996). *Fertilização: fundamentos da utilização dos adubos e corretivos*. Coleção Euroagro, Publicações Europa-América, Mem Martins.

SANTOS, J. L. O. ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE NITRITO E NITRATO EM MATRIZES AMBIENTAIS E ALIMENTÍCIAS, EMPREGANDO ANÁLISE DE IMAGENS DIGITAIS. 2013. UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA. INSTITUTO DE QUÍMICA. PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA. Salvador.

SHAPLEY R. e HAWKEN M. Neural mechanisms for color perception in the primary visual cortex. *Curr Opin Neurobiol*, v. 12, n. 4, p. 426-32, 2002.

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

SILVA, M. V. (1982). *Aubos e Aubações*. Livraria Clássica Editora, Lisboa.

SILVA, F. C. da; EIRA, P. A. da; BARRETO, W. de O.; PEREZ, D. V.; SILVA, C. A. *Manual de métodos de análises químicas para avaliação da fertilidade do solo*. 1998. Embrapa Solos. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/solos/busca-de-publicacoes/-/publicacao/335210/manual-de-metodos-de-analises-quimicas-para-avaliacao-da-fertilidade-do-solo>>. Acesso em mai, 2021.

SOLDAT D. J., BARAK P. e LEPORE B. J. Microscale Colorimetric Analysis Using a Desktop Scanner and Automated Digital Image Analysis. *Journal of Chemical Education*, v. 86, n. 5, p. 617, 2009;

SOUSA, X. D. R. *Resposta do Milho a Diferentes Formas de Gestão da Fertilidade do Solo*. 2017. Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária. Disponível em: <<https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/14433/1/X%C3%AAnia%20Vers%C3%A3o%20Final.pdf>>. Acesso em mai, 2021.

STEIMLE E. T., KALTENBACHER E. A. e BYRNE R. H. In situ nitrite measurements using a compact spectrophotometric analysis system. *Marine Chemistry*, v. 77, n. 4, p. 255-262, 2002.

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

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

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

VALADARES, G. S., PEREIRA, M. G., ANJOS, L. H. C. Adsorção de fósforo em solos de argila de atividade baixa. 2003. *Bragantia*, Campinas, v.62, n.1, p.111-118. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/105801/1/1223.pdf>. Acesso em mai. 2021.

VARENNE, A. (2003). *Produtividade dos solos e ambiente*. Escolar Editora, Lisboa.

WONGWILAI W., LAPANANTNOPPAKHUN S., GRUDPAN S. e GRUDPAN K. Webcam camera as a detector for a simple lab-on-chip time based approach. *Talanta*, v. 81, n. 3, p. 1137-1141, 2010.

YANG C. X., SUN X. Y., BIN L. e LIAN H. T. Determination of total phosphorus in water sample by digital imaging colorimetry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, v. 35, n. 6, p. 850-853, 2007;

ZAMORA L. L., LOPEZ P. A., FOS G. M. A., ALGARRA R. M., ROMERO A. M. M. e CALATAYUD J. M. Quantitative colorimetric-imaging analysis of nickel in iron meteorites. *Talanta*, v. 83, n. 5, p. 1575-1579, 2011.

ZERAIK, Ana Eliza; SOUZA, Fernanda Sant'Ana de; FATIBELLO-FILHO, Orlando; LEITE, Oldair D. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. *Quím. Nova* [online]. 2008, vol.31, n.4, pp.731-734. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000400003&lng=en&nrm=iso. ISSN 0100-4042. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000400003>. Acesso em mai, 2021.