

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO OESTE – UNICENTRO

**ANÁLISE RÁPIDA DE CARBONO ORGÂNICO E
MATÉRIA ORGÂNICA EM SOLOS UTILIZANDO
FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X E CALIBRAÇÃO
MULTIVARIADA**

FRANSLLEY MORONA

GUARAPUAVA - PR

2016

FRANSLLEY MORONA

**ANÁLISE RÁPIDA DE CARBONO ORGÂNICO E
MATÉRIA ORGÂNICA EM SOLOS UTILIZANDO
FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X E CALIBRAÇÃO
MULTIVARIADA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, área de concentração em Química Analítica, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Luiz Melquíades

GUARAPUAVA - PR

2016

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da Unicentro, Campus Cedeteg

R165c

Morona, Fransley

Análise rápida de carbono orgânico e matéria orgânica em solos utilizando fluorescência de raios X e calibração multivariada / Fransley Morona. -- Guarapuava, 2016.

xi, 69 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, área de concentração em Química Analítica, 2016.

Orientador: Fábio Luiz Melquiades

Banca examinadora: Fábio Luiz Melquiades, Marcelo Marques Lopes Müller, Vanderlei Aparecido de Lima

Bibliografia

1. Química. 2. Química aplicada. 3. Química analítica. 4. Matéria orgânica. 5. Carbono orgânico. 6. PLSR. 7. EDXRF. 8. Química Verde. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Química.

CDD 542

A Deus e
a minha família.

AGRADECIMENTOS

- A todos meus familiares, em especial, minha esposa Cristina e minha filha Letícia, pelo apoio, incentivo e inspiração e a minha mãe Edevite, além de tudo, por cuidar da minha princesa e de mim;
- Ao meu orientador, Professor Fábio Luiz Melquiades, pela dedicação, oportunidade, apoio científico e pelos preciosos conhecimentos compartilhados;
- Ao Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada (PPGQ);
- Ao Professor André Brinatti e ao Professor Sérgio Saab e grupo FASCA da UEPG, pelas análises de EDXRF;
- Ao Professor Marcelo Müller pelo valioso conhecimento compartilhado na área agronômica e por ceder o necessário para elaboração das análises gravimétricas em mufla;
- Ao Professor Ricardo e equipe, pelas análises de TGA;
- Ao Luiz Felipe do laboratório de solos AGROTECSOLO de Guarapuava pelas amostras de solo e por ceder o necessário para elaboração das análises WB;
- A CAPES pelo apoio financeiro através de bolsa de estudos;

“Alguns homens veem as coisas como são, e perguntam ‘Por quê?’ Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo ‘Por que não?’”

(George Bernard Shaw)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação do efeito Fotoelétrico.....	9
Figura 2 - Representação da nomenclatura de Siegbahn.....	10
Figura 3 - Representação gráfica do Rendimento da Fluorescência (ω) versus Número Atômico (Z).....	10
Figura 4 - Representação do efeito Auger.....	11
Figura 5 - Representação do efeito Rayleigh.....	12
Figura 6 - Representação do efeito Compton.....	13
Figura 7 - Espectro gerado por um tubo de raio X com alvo de Rh e tensão de 30kV	14
Figura 8 - Espectro característico de EDXRF em solo sem pré-processamento	16
Figura 9 - Espectro característico de EDXRF em solo centrado na média.....	16
Figura 10 - Representação da decomposição de uma matriz por PCA.....	17
Figura 11 - Representação da obtenção das PC's em um conjunto de dados bidimensionais	17
Figura 12 - Mapa da região estudada com identificação dos planaltos	31
Figura 13 - Mapa da região estudada com identificação das bacias hidrográficas.....	32
Figura 14 - Histograma do teor de Carbono Orgânico Total (COT) obtido pelo método Walkley Black.....	36
Figura 15 - Análise termogravimétrica para uma amostra de solo de Guarapuava com 3,15% de Carbono Orgânico Total.....	37
Figura 16 - Análise termogravimétrica isotérmica para uma amostra de solo de Guarapuava com 3,15% de Carbono Orgânico Total.....	38
Figura 17 - Histograma das análises gravimétricas em mufla da bacia do Alto Tibagi	39
Figura 18 - Histograma das análises gravimétricas em mufla da bacia do Afluentes do Médio Iguaçu.....	39
Figura 19 - Histograma das análises gravimétricas em mufla das bacias do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.....	39
Figura 20 - Regressão linear entre o teor de Carbono Orgânico Total (COT) via Walkley Black (WB) versus Matéria Orgânica (MO) via gravimetria com amostras da bacia do Alto Tibagi.....	40

Figura 21 - Regressão linear entre o teor de Carbono Orgânico Total (COT) via Walkley Black (WB) <i>versus</i> Matéria Orgânica (MO) via gravimetria com amostras da bacia dos Afluentes do Médio Iguaçu.	40
Figura 22 - Regressão linear entre o teor de Carbono Orgânico Total (COT) via Walkley Black (WB) <i>versus</i> Matéria Orgânica (MO) via gravimetria com amostras das bacias do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.	40
Figura 23 – Espectros sobrepostos de Fluorescência de Raio X por Dispersão em Energia (EDXRF) das 152 amostras de solo analisadas.	41
Figura 24 - <i>Loadings</i> da Análise por Componentes Principais dos 152 espectros de solo com centragem na média.	42
Figura 25 - <i>Loadings</i> de PC1 <i>versus</i> PC 2 da Análise por Componentes Principais dos 152 espectros de solo com centragem na média.	42
Figura 26 – <i>Scores</i> de PC1 <i>versus</i> PC2 da Análise por Componentes Principais dos espectros identificados por planaltos com centragem na média.	43
Figura 27 - <i>Scores</i> de PC1 <i>versus</i> PC2 da Análise por Componentes Principais dos espectros identificados por bacias, com centragem na média	44
Figura 28 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) <i>versus</i> valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para as 152 amostras de solo.	45
Figura 29 - <i>Loadings</i> das 10 Variáveis Latentes (LV) que compõem o modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para as 152 amostras de solo.	46
Figura 30 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) <i>versus</i> valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com a região de espalhamento de fluorescência de raio X para as 152 amostras de solo.	48
Figura 31 - <i>Loadings</i> das 2 primeiras Variáveis Latentes (LV) que compõem o modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com a região de espalhamento de fluorescência de raio X para as 152 amostras de solo	48
Figura 32 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) <i>versus</i> valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto da bacia do Alto Ivaí.	50

Figura 33 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) <i>versus</i> valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto da bacia do Alto Tibagi.	51
Figura 34 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) <i>versus</i> valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto da bacia dos Afluentes do Médio Iguaçu.	51
Figura 35 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) <i>versus</i> valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto do município de Ivaí.	53
Figura 36 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) <i>versus</i> valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto do município de Prudentópolis.	54
Figura 37 - Valores de Matéria Orgânica (MO) medidos com o método Gravimétrico <i>versus</i> valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto da bacia do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.	55
Figura 38 - Valores de Matéria Orgânica (MO) medidos com o método Gravimétrico <i>versus</i> valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com a região de espalhamento de fluorescência de raio X para o conjunto da bacia do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.	57
Figura 39- Gráfico do custo de uma análise de Carbono Orgânico Total e Matéria Orgânica pelos métodos Walkley Black, gravimétrico e por fluorescência de raio X por dispersão em energia.	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Desvio Relativo (DR) calculado a partir de resultados apresentados por Conceição et. al. (1999) entre os métodos Walkley-Black (WB) e Análise Elementar (AE).	27
Tabela 2 - Valores do erro padrão de previsão (SEP) e R^2 obtidos por Kaniu et. al (2012).	28
Tabela 3 - Resumo resultados apresentados por Kaniu et. al (2012).	28
Tabela 4 - Parâmetros utilizados na análise termogravimétrica	34
Tabela 5 - Configurações e condições de medidas do equipamento EDX720 Shimadzu. ..	35
Tabela 6 - Média e desvio relativo (DR) dos teores de Matéria Orgânica (MO) estimados pelo método Walkley Black (WB) com amostras das bacias do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.	41
Tabela 7 - Resumo dos resultados para bacias hidrográficas do Alto Ivaí (AI), Alto Tibagi (AT) e Afluentes do Médio Iguaçu (AMI).	49
Tabela 8 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) obtidos pelos métodos Walkley Black (WB) e fluorescência de raio X por dispersão em energia (EDXRF) para as amostras de validação do Alto Ivaí (AI), Alto Tibagi (AT) e Afluentes do Médio Iguaçu (AMI) e respectivos Desvio Relativos (DR).	52
Tabela 9 - Resumo dos resultados para os modelos dos municípios de Ivaí e Prudentópolis.	53
Tabela 10 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) obtidos pelos métodos Walkley Black (WB) e fluorescência de raio X por dispersão em energia (EDXRF) para as amostras de validação dos municípios de Ivaí e Prudentópolis e respectivos Desvio Relativos (DR)	54
Tabela 11 - Comparativo de resultados de Matéria Orgânica (MO) obtidos pelo método Gravimétrico, Walkley Black (WB) e por fluorescência de raio X por dispersão em energia (EDXRF).	58
Tabela 12 – Composição dos custos das análises de Carbono Orgânico Total ou Matéria Orgânica pelos Métodos Walkley Black, gravimétrico e por fluorescência de raio X por dispersão em energia.	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE	Análise Elementar
AI	Alto Ivaí
AMI	Afluentes do Médio Iguaçu
ANN	Redes Neurais Artificiais
AT	Alto Tibagi
CI	Carbono Inorgânico
CO	Carbono Orgânico
COT	Carbono Orgânico Total
CT	Carbono Total
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
CV	Coefficiente de Variação
DPR	Desvio Padrão Relativo
DR	Desvio Relativo
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
DTA	Análise Térmica Diferencial
EDXRF	Fluorescência de Raio X por dispersão em Energia
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
GL	Graus de Liberdade
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LV	Variável Latente
MO	Matéria Orgânica
NRCS	Natural Resources Conservation Service
NSSC	National Soil Survey Center
NT	Nitrogênio Total
PC	Principal Componente
PCA	Análise de Componentes Principais
PLSR	Regressão por Mínimos Quadrados Parciais
PP	Piquirí Paraná II
PXRF	Fluorescência de Raio X por Dispersão em Energia Portátil
RMSE	Erro Quadrático Médio
RMSEC	Erro Quadrático Médio de Calibração
RMSECV	Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada

RMSEP	Erro Quadrático Médio de Previsão
R^2	Coefficiente de Determinação
SEP	Erro Padrão de Previsão
TFSA	Terra Fina Seca ao Ar
TGA	Análise Termogravimétrica
UNICENTRO	Universidade Estadual do Centro Oeste
Vis-NIR	Infra Vermelho – Visível
WB	Walkley Black
Z	Número Atômico
ω	Eficiência de Fluorescência

RESUMO

O teor de Matéria Orgânica (MO) presente no solo é de fundamental importância para agricultura, estando relacionados aos rendimentos e à sustentabilidade do sistema de produção agrícola. A determinação do teor de Carbono Orgânico Total (COT), ou indiretamente MO, é comumente realizada pelos laboratórios de análise de solos do Brasil pelo método Walkley Black (WB), o qual utiliza oxidação com Dicromato de Potássio, reagente altamente cancerígeno. O objetivo deste estudo é desenvolver uma metodologia para determinação de MO e COT utilizando Fluorescência de Raios X por Dispersão em Energia (EDXRF) e análise multivariada, com a finalidade de minimizar: os riscos envolvidos ao manusear produtos químicos, os resíduos gerados, os custos, além do tempo de análise. Foram analisadas 152 amostras de solo agrícola com profundidade máxima de 20 cm pertencentes ao segundo e terceiro planaltos do Estado do Paraná, Brasil. As determinações foram realizadas pelo método convencional WB, por Gravimetria e EDXRF. Os dados espectrais de EDXRF foram processados pelo método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR do inglês, *Partial Least Squares Regression*) para elaboração de modelos de previsão. O fator de Van Bemmelen (relação entre MO e COT) obtido com o teor de MO via gravimetria e COT via WB foi de 4,37. Foi obtido um modelo global para determinação de COT, utilizando-se como referência o método WB, o desvio relativo médio encontrado foi de 16% para amostras de validação e $R^2=0,73$. Também foram obtidos modelos mais específicos como para as bacias hidrográficas do Alto Ivaí, Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu com desvio relativo médio entre 13 a 22% com R^2 entre 0,53 e 0,90. Os modelos obtidos com os dados EDXRF tendo como base o método Gravimétrico apresentaram resultados melhores, com desvio relativo médio de 16% e $R^2=0,89$ utilizando o espectro completo e desvio relativo médio de 15% e $R^2=0,90$ ao utilizar a região de espalhamento. O teste t-pareado, aplicado às amostras de validação, indicou não haver diferença significativa de exatidão entre os métodos EDXRF e os métodos WB e Gravimétrico. A elaboração de um modelo considerando somente a região de espalhamento comprovou a sua importante relação com o COT e a MO. A estimativa de custos indicou a viabilidade de substituição do método WB pelo EDXRF em laboratórios que realizam de médios a grandes volumes de análises. A equivalência entre os resultados via WB comparados com a metodologia proposta indicam que este pode ser um método alternativo para determinação de COT com as vantagens de ser uma análise rápida, não destrutiva e de acordo com os conceitos da química verde.

Palavras-Chave: Matéria Orgânica, Carbono Orgânico, PLSR, EDXRF, Química Verde.

ABSTRACT

The organic matter (OM) and the Total Organic Carbon (TOC) content in the soil are of fundamental importance to agriculture and directly related to the system sustainability and to the cost of production. The determination of TOC content is commonly performed by soil analysis laboratories with Walkley Black method, which uses oxidation with potassium dichromate, highly carcinogenic reagent. The objective of this study is to develop a methodology for OM and TOC determination using Energy Dispersive X-Ray Fluorescence (EDXRF) and multivariate analysis, in order to minimize: the risks involved in handling chemicals, waste generated, costs and besides the analysis time. It were analyzed 152 soil samples from farms in the second and third Paraná plateau. Determinations were carried out by the conventional methods of WB and Gravimetry and by EDXRF. Spectral data from EDXRF were processed by partial least squares regression (PLSR) method for the development of predictive models. Van Bemmelen factor (relationship between OM and TOC) obtained with the OM content by gravimetric and TOC by WB was 4.37, higher than other factors cited in the literature, indicating the largest state of OM decomposition in the studied region. A global model for the determination of TOC was obtained using as reference the WB method, the average relative deviation was 16% for validation samples and $R^2 = 0.73$. Were also obtained more specific models and for the watersheds of the Alto Ivaí, Alto Tibagi and the Afluentes do Médio Iguacú with average relative deviation of 13-22% with R^2 between 0.53 and 0.90. The models obtained with the EDXRF data based on the gravimetric method showed better results, with a relative deviation average of 16% and $R^2 = 0.89$ using the full spectrum and average relative deviation of 15% and $R^2 = 0.90$ when using the scattering region. The paired t-test, applied to the validation samples, showed no significant difference in accuracy between EDXRF and WB methods and EDXRF and Gravimetric methods. The developed model considering only the scattering region proved its important relationship with the TOC and the OM. The cost estimate indicate the feasibility to replace WB by EDXRF for medium to high rate of analysis.

The results equivalence suggests that EDXRF might be an alternative method for determining TOC with the advantages being faster analysis, nondestructive and accordance to green chemistry concepts.

Keywords: Organic Matter, Organic Carbon, PLSR, EDXRF, Green Chemistry.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo Geral.....	3
2.2. Objetivos Específicos.....	3
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	4
3.1. Matéria Orgânica e Carbono Orgânico Total.....	4
3.2. Métodos de Determinação de Carbono Orgânico Total ou Matéria Orgânica.....	5
3.2.1. Método Análise Elementar.....	5
3.2.2. Método Walkley & Black.....	5
3.2.3. Método Gravimétrico.....	7
3.2.4. Análise Termogravimétrica.....	7
3.3. Fluorescência de Raios X por Dispersão em Energia.....	8
3.3.1. Raios X.....	8
3.3.2. Fundamentação da Fluorescência de Raio X por Dispersão em Energia.....	9
3.3.3. Espalhamento de raios X.....	11
3.3.4. Instrumentação.....	13
3.4. Análise estatística.....	15
3.4.1. Análise multivariada e pré processamento de dados.....	15
3.4.2. Análise dos Componentes Principais.....	16
3.4.3. Regressão por Mínimos Quadrados Parciais.....	18
3.4.4. <i>Teste t</i> -pareado.....	19
3.4.5. T^2 -Hotelling.....	20
3.4.6. Rotina Kennard & Stone.....	22
3.5. Validação de métodos e Figuras de mérito.....	23
3.5.1. Exatidão.....	23
3.5.2. Precisão.....	24
3.5.2.1. Repetibilidade.....	24
3.5.2.2. Comparação da precisão entre métodos.....	25
3.5.3. Desvio Relativo.....	25

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
4.1. Métodos para determinação de COT e MO	26
4.2. Aplicações de EDXRF em solos	27
5. METODOLOGIA	30
5.1. Amostragem	30
5.2. Preparo das amostras	30
5.3. Determinação WB	33
5.4. Análise Termogravimétrica	33
5.5. Determinação Gravimétrica em Mufla.....	34
5.6. Fluorescência de Raio X por Dispersão em Energia.....	34
5.7. Tratamento dos dados.....	35
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
6.1. Método de Walkley-Black	36
6.2. Análise Termogravimétrica	36
6.3. Método Gravimétrico em Mufla	38
6.4. Análise de Fluorescência de Raio X por Dispersão em Energia	41
6.4.1. Análise Discriminatória por PCA dos Espectros de EDXRF	41
6.4.2. PLSR com Espectros EDXRF <i>versus</i> Análise WB.....	44
6.4.2.1. Modelo Global com Espectro Completo.	44
6.4.2.2. Modelo Global utilizando a Região do Espalhamento.	47
6.4.2.3. Modelo para as Bacias Hidrográficas com espectro completo.	49
6.4.2.4. Modelo para os Municípios Utilizando Espectro Completo.	52
6.4.3. PLSR com dados de EDXRF <i>versus</i> gravimetria em mufla	55
6.4.3.1. Modelo com espectro completo.....	55
6.4.3.2. Modelo com a Região de Espalhamento.....	56
6.5. Comparação entre os métodos gravimétrico, WB e EDXRF.	58
6.6. Custo das análises	59
6.7. Considerações Finais	60
7. CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
ANEXO I	67
ANEXO II.....	69

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A metodologia analítica mais empregada para determinação do teor de Carbono Orgânico Total (COT), ou indiretamente a Matéria Orgânica (MO) nos laboratórios de solos do Brasil é denominada Walkley-Black (WB)[1]. Esta metodologia não atende aos conceitos da química verde por utilizar sal de Dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), um agente altamente cancerígeno[2].

A química analítica tem sofrido grandes revoluções com as inovações tecnológicas, as quais permitiram desenvolver equipamentos cada vez mais precisos e rápidos. O constante aperfeiçoamento das técnicas é necessário para atender o aumento na demanda pela qualidade e o atendimento à rigidez das legislações.

Em se falando de análise de solo no Brasil, técnicas mais sofisticadas, como ICP-AES, são pouco utilizadas em função do custo de implantação. Sendo que são inúmeros os laboratórios que continuam realizando análises titulométricas em determinações rotineiras. Com o avanço da agricultura de precisão, este quadro precisa ser modificado. O grande volume de análises de solo e a necessidade de resultados rápidos demandam o desenvolvimento de uma técnica compatível a esses fatos.

Dentre as técnicas analíticas que possibilitam uma determinação mais rápida e com reduzidas etapas de preparação de amostras estão as técnicas espectroscópicas com destaque para UV-VIS e NIR [3–6], e nos últimos anos a Fluorescência de Raios X também desponta como uma possibilidade viável, especialmente a sua variante de Fluorescência de raios X por dispersão em energia (EDXRF) [7–11].

A análise por EDXRF é comumente empregada na determinação simultânea de elementos de Na a U com maior especificidade para metais. Elementos leves como C, N e O, principais constituintes da MO, emitem fótons de baixa energia e cujos picos característicos não são medidos. No entanto a utilização da região de espalhamento de raios X no espectro de EDXRF associado à análise multivariada permite obter resultados de parâmetros implícitos contidos nos espectros de EDXRF, parâmetros estes relacionados à concentração de elementos leves. Basicamente, a intenção deste estudo será utilizar o espectro de EDXRF, e, por meio de regressão multivariada, determinar o teor de COT ou MO em amostras de solo.

A determinação do COT ou MO via EDXRF pode vir a complementar a aplicação convencional de EDXRF para determinação de metais em solo, permitindo o uso de uma

única técnica para determinação de vários parâmetros. Isso tornaria a análise via EDXRF uma alternativa em substituição das atuais metodologias, com a vantagem de ser uma análise rápida, não destrutiva, de baixo impacto ambiental e atendendo aos princípios da química verde.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Desenvolver um procedimento para determinação de COT e MO combinando EDXRF e análise multivariada visando sua utilização rotineira em laboratórios de análise de solos.

2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Determinação de COT e MO por métodos convencionais;
- ✓ Analisar as características e semelhanças contidas no conjunto amostral utilizando a análise de componentes principais (PCA) e estabelecer modelos de previsão, utilizando regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR);
- ✓ Utilizar ferramentas estatísticas para avaliar a precisão e exatidão dos resultados.
- ✓ Elaborar uma estimativa de custos dos métodos Walkley & Black, Gravimétrico em mufla e o desenvolvido neste estudo por Fluorescência de raio X por dispersão em energia.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Matéria Orgânica e Carbono Orgânico Total

A MO tem um efeito muito importante sobre quase todas as propriedades do solo, embora esteja presente relativamente em pequenas quantidades, sendo que um solo agrícola possui cerca de 1 a 6% de MO, a qual é encontrada em três diferentes formas: organismos vivos, resíduos frescos e resíduos decompostos[12].

A parte viva da MO do solo é composta por uma ampla variedade de microrganismos tais como: bactérias, vírus, fungos, protozoários e algas. Ela inclui ainda as raízes das plantas, insetos, minhocas e outros organismos maiores. Esta porção representa cerca de 15% do total de MO do solo, a qual se alimenta de resíduos de plantas e nutrientes minerais. Neste processo, misturam MO com a parte mineral do solo, fazendo assim a reciclagem de nutrientes para as plantas[13].

Os resíduos frescos consistem em restos de organismos vivos no início do processo de decomposição. Esta fração da MO é considerada ativa ou de fácil decomposição. Essa fração geralmente não possui vida longa no solo pois muitos microrganismos a utilizam como alimento. O material orgânico bem decomposto no solo, chamado de húmus, é extremamente complexo. Possui idade média de mais de mil anos. O húmus é uma fração muito importante do solo, pois possui propriedades químicas para deter e armazenar nutrientes essenciais para as plantas. Uma boa quantidade de húmus no solo tanto pode diminuir a drenagem e problemas de compactação que ocorre em solos argilosos quanto melhorar a retenção de água em solos arenosos reforçando a agregação, o que reduz a densidade do solo e retém a umidade[12].

O C do solo é por vezes utilizado como sinônimo de MO porque ele é o principal constituinte de todas as moléculas orgânicas. O teor de C é fortemente relacionado com a quantidade total de MO. Estudos revelam que o teor de MO é cerca de duas a três vezes maior que o teor de COT[14–18], no entanto este assunto será melhor discutido posteriormente.

É possível cultivar plantas em solos com pouca ou nenhuma MO, porém conforme tem-se a diminuição no teor da MO, torna-se mais difícil cultivar plantas. Problemas com fertilidade, disponibilidade de água, compactação, erosão, atividades de parasitas, surgimento de doenças e insetos se tornam mais comuns. Tendo-se o cuidado para manter um nível adequado de MO no solo é possível realizar uma boa colheita sem

necessidade de correções dispendiosas[12].

3.2. Métodos de Determinação de Carbono Orgânico Total ou Matéria Orgânica.

3.2.1. Método Análise Elementar

Este método é considerado padrão para análise de Carbono[19], no entanto ele não consegue diferenciar entre o Carbono Orgânico (CO) e o Carbono Inorgânico (CI), determinando então o Carbono Total (CT). Portanto, ao utilizar este método na determinação de CO, faz-se necessário uma etapa de preparação, onde retira-se a fração inorgânica.

Este método, conhecido também como método Dumas, é baseado na oxidação das amostras em alta temperatura (aproximadamente 1100°C) sob atmosfera controlada[20].

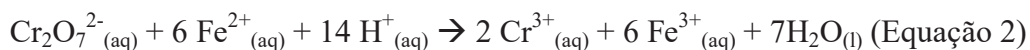
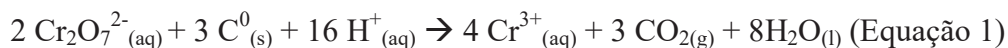
As amostras são moídas, peneiradas, tratadas para remoção do CI para só então serem pesadas em cápsulas de estanho e fechadas manualmente. São acondicionadas uma a uma no forno, o qual possui controle da atmosfera através da inserção de gases de alta pureza. Após combustão total, os gases contendo CO₂ e CO dentre outros gases resultantes da combustão (Ex.: N₂, NO₂, NO, H₂O, SO, SO₂) são separados (através de colunas cromatográficas ou de adsorventes) e a concentração de C é então medida por um detector. A forma de separação e os detectores variam de acordo com o equipamento/fabricante. Os detectores mais comuns são os de condutividade térmica e de infravermelho[20].

Trata-se portanto de um método com excelente precisão e exatidão, no entanto, não foi utilizado neste estudo, visto que o interesse é comparar as técnicas utilizadas como rotina nos laboratórios de solo. A análise elementar geralmente é utilizada em laboratórios industriais para controle de processos.

3.2.2. Método Walkley & Black

O método proposto por Walkley & Black (1934) utiliza o princípio da combustão úmida onde o K₂Cr₂O₇ é utilizado como agente oxidante. Conforme citado anteriormente, este é o método mais utilizado nos laboratórios brasileiros, pois é o que melhor se adapta a alta demanda e dispensa o uso de equipamentos especializados [21]. A oxidação do COT do solo ocorre por íons Cr₂O₇²⁻ em meio fortemente ácido catalisado pelo calor liberado na

adição do ácido a solução de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, detalhada na Equação 1. A determinação do teor de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ remanescente é feita por titulação com íons Fe^{2+} proveniente de uma solução padronizada de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, detalhada na Equação 2[22].



O COT é então determinado indiretamente, pois quantifica-se primeiramente o $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ restante após a oxidação através da titulação com o $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Equação 2). Então calcula-se a quantidade de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ que reagiu com o C através da diferença com o que foi adicionado ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ reagido com C = $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ adicionado – $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ determinado na titulação), possibilitando a quantificação do COT, a partir da estequiometria apresentada na Equação 1, tendo como pressuposto que todo o C presente na amostra está com número de oxidação igual a zero[19].

A partir do teor de COT é possível estimar o teor de MO do solo. Hoje, no Brasil, está estabelecido um fator de 1,724 (fator de Van Bemmelen), assumindo-se que o C é responsável por 58% da MO[19]. Como alguns cálculos agrônômicos são baseados no teor de MO, muitos laboratórios realizam esta conversão. Entretanto, já é conhecido que este fator oscila conforme determinadas características do solo e regiões [1], e alguns estudos relatam valores diferentes: 2,13[14], 1,68[23], 2,05[15], 1,724[16], 3,18[1], 3,72[17]. Segundo Broadbent (1953) este fator também oscila de acordo com a profundidade do solo, indicando valores de 1,9 para amostras superficiais de solos e 2,5 para amostras mais profundas[18].

Outra fonte de erro deste método é que a oxidação do COT por $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ não é completa, não alcançando algumas formas de C mais estáveis como o carvão. O fator de recuperação de CO usando esse procedimento varia entre 60 e 86%, com média de 76%, sendo necessário aplicar outro fator de correção do método[22].

Com o objetivo de eliminar este último fator, Mebius (1960) modificou o método WB, aplicando uma fonte de calor externo para que ocorresse a digestão completa[24]. No entanto, uma etapa trabalhosa como esta não foi adotada pelos laboratórios de solo do Brasil.

3.2.3. Método Gravimétrico

A análise gravimétrica é uma metodologia de determinação direta da MO que não utiliza ou gera resíduos tóxicos. Este método foi utilizado antes do método WB, entretanto, ele foi abandonado devido à baixa velocidade analítica e dificuldade para aplicação rotineira em laboratório[17].

Esta técnica é baseada na perda de massa por incineração, normalmente utilizando-se uma mufla. Para isto exige uma etapa de secagem da amostra, a fim de não ocorrer superestimação proveniente da perda de massa por evaporação de água. A combustão da MO ocorre em duas etapas, decomposição da MO e oxidação do C.

A decomposição da MO ocorre em uma ampla faixa de temperatura, de 200 a 280°C, onde ocorre a quebra de grupos funcionais carboxílicos e fenólicos dos ácidos húmicos, fúlvicos e compostos hidrocarbonetos. Nesta faixa ocorre também a volatilização de compostos de baixo peso molecular. A oxidação do C ocorre de 270 a 370°C onde o C reage com o O₂ gerando o CO₂, e juntas essas duas etapas geram a perda de massa que pode ser mensurada[17].

Diversos estudos têm testado temperaturas de aquecimento para incineração da MO do solo com resultados diferenciados, chegando a temperatura de 600°C[1]. Uma temperatura muito alta pode fornecer resultados superestimados, pois na faixa de 380 a 530°C pode ocorrer desidroxilação de metais constituintes da matriz do solo, como Fe, Al, Mn e outros[17]. Esta perda não pode ser discriminada através desta análise, mas estes valores podem ser comprovados através de uma análise termogravimétrica, a qual será descrita em seguida.

Outros estudos demonstram que o método da calcinação superestima os resultados quando comparados ao WB e a análise elementar[20,25]. Isto pode estar relacionado tanto as altas temperaturas empregadas como também ao fator de Van Bemmelen, pois ambas as técnicas determinam C e não MO, sendo necessária a conversão através deste fator.

3.2.4. Análise Termogravimétrica

Análise Termogravimétrica (TGA) é uma técnica em que algumas propriedades físicas de uma substância (como massa e temperatura) são monitoradas em função de uma programação de aquecimento sob uma atmosfera controlada. Esta técnica pode fornecer

informações sobre os fenômenos físicos, como: vaporização, sublimação, absorção, adsorção e dessorção. Da mesma forma, pode fornecer informações sobre os fenômenos químicos, incluindo quimissorção, dessolvatação (especialmente a desidratação), decomposição e reações gás-sólido (por exemplo, oxidação ou redução)[26].

Alguns equipamentos realizam duas outras análises simultâneas à TGA, a Análise Térmica Diferencial (DTA) e a Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). A DTA mensura a diferença de temperatura entre a amostra e uma referência sob mesma condição, a qual é monitorada e representada graficamente em função da temperatura da amostra. Isto permite monitorar reações como oxidação, desidroxilação e identificá-las como endotérmicas ou exotérmicas. A DSC é semelhante ao DTA, mas além da temperatura, é monitorado também o fluxo de calor entre a amostra e o meio. Isto permite medir a energia térmica que é consumida pela amostra[26].

A TGA não é utilizada em análise rotineira de MO por consumir uma grande quantidade de tempo. No entanto, tem sido utilizada em estudos para determinar a temperatura em que ocorre a combustão da MO, assim como a temperatura em que interferentes como a perda de água e a desidroxilação influenciam a análise. Estes dados possibilitam a determinação dos parâmetros corretos para análise gravimétrica em mufla[17].

3.3. Fluorescência de Raios X por Dispersão em Energia

3.3.1. Raios X

O raio X é uma radiação eletromagnética cuja descoberta ocorreu no ano de 1885 pelo físico alemão Wilhelm Conrad Roentgen (1845-1923), a qual lhe rendeu o prêmio Nobel de Física em 1901[27].

A denominação “raio X” foi usada por Roentgen por se tratar de um raio até então desconhecido. Hoje, o raio X possui vasto campo de aplicação, além de seu uso nas radiografias, amplamente conhecido. São utilizados, por exemplo, no tratamento de câncer, na pesquisa de estrutura cristalina dos sólidos, na indústria e em muitos outros campos da ciência e da tecnologia[28].

Os raios X propagam-se com a velocidade da luz e, como qualquer outra onda eletromagnética, esses raios estão sempre sujeitos aos fenômenos da refração, reflexão, difração, polarização e interferência[27].

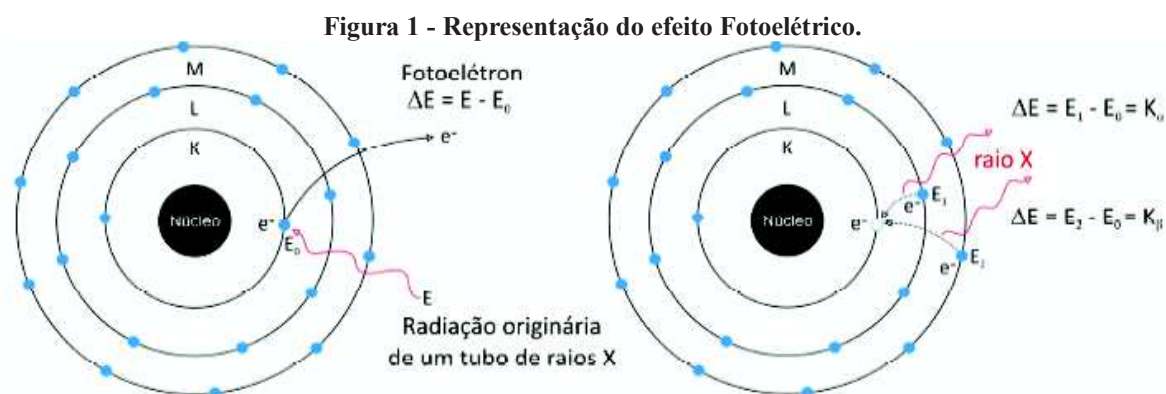
3.3.2. Fundamentação da Fluorescência de Raio X por Dispersão em Energia

A técnica de fluorescência de raios X nasceu por volta de 1912, com um trabalho apresentado por Henry Moseley, mas foi em 1948 que a técnica ganhou força com um trabalho apresentado por Freidman & Birks[27].

A fluorescência de raio X por dispersão em energia (EDXRF, do Inglês, *Energy Dispersive X-ray Fluorescence*) é classificada como uma técnica de emissão atômica, baseada na interação de raios X com a matéria. Três destas interações estão descritas neste trabalho: o Efeito Fotoelétrico, o Espalhamento Compton e o Espalhamento Rayleigh.

O Efeito Fotoelétrico ocorre quando um feixe de raios X incide em elétrons das camadas mais internas de um átomo, e fornece energia suficiente para pelo menos um destes elétrons ser ejetado. Essa energia possui um valor mínimo para que ocorra a ejeção, denominado corte de absorção que é igual a energia de ligação deste elétron na camada. Esta energia de ligação eletrônica pode ser estimada, aplicando-se a teoria atômica de Bohr para o átomo de hidrogênio e hidrogenóides, e posteriormente, fazendo-se algumas considerações sobre as experiências de Moseley[29]. No entanto, estes valores encontram-se tabelados e não serão discutidos neste estudo.

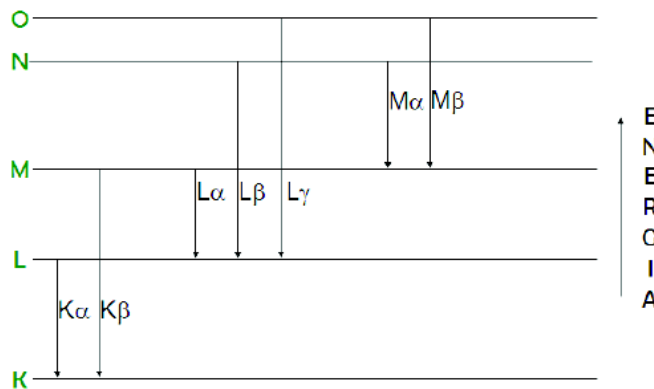
Após esta ionização, um elétron de uma camada superior, e conseqüentemente com maior energia, decai para ocupar a vacância a fim de estabilizar o átomo. A energia restante é emitida através de um fóton de raio X característico para cada elemento. As duas etapas deste efeito são mostradas na Figura 1[27].



Os raios X característicos de cada elemento são comumente identificados de acordo com as camadas envolvidas nesta transição. Segundo a nomenclatura de Siegbahn,

a camada a ser preenchida pelo elétron é que determina a primeira parte do nome. A segunda parte é definida pela camada de origem do elétron, se a camada de origem for a mais próxima, será denominada de α , se for das camadas posteriores serão denominadas sucessivamente β , γ , δ , etc, conforme ilustrado na Figura 2[30].

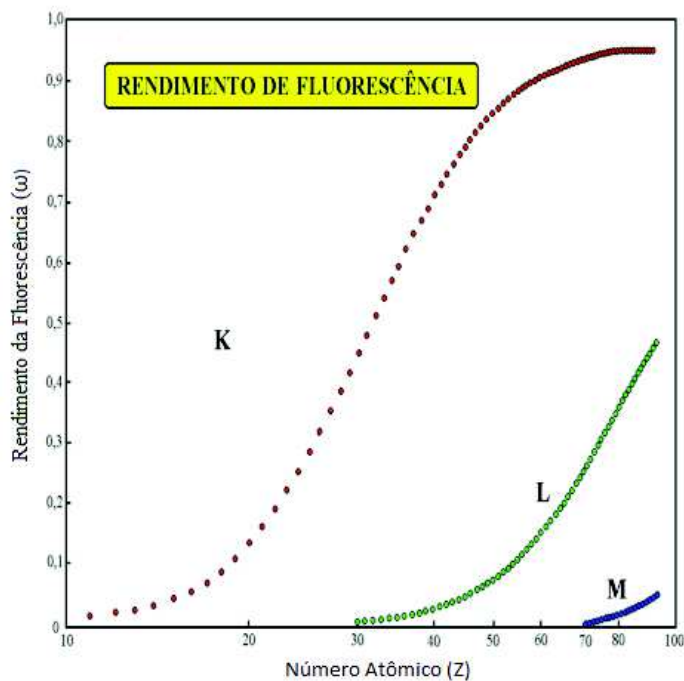
Figura 2 - Representação da nomenclatura de Siegbahn.



Fonte: [30]

O rendimento deste efeito não é igual para todos os elementos e está relacionado ao número atômico (Z), no entanto este rendimento é conhecido e está apresentado na Figura 3[29].

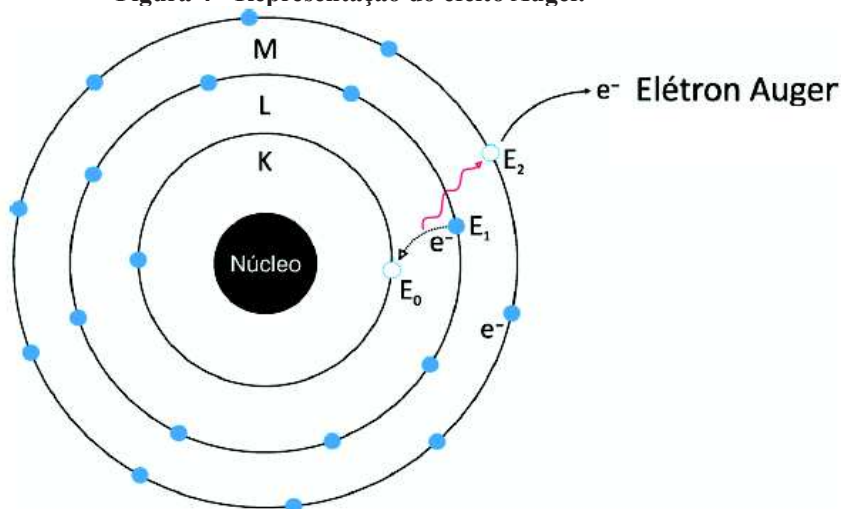
Figura 3 - Representação gráfica do Rendimento da Fluorescência (ω) versus Número Atômico (Z).



Fonte: [29]

Elementos com baixo Z emitem menores quantidades de raios X, devido à auto absorção com emissão de elétrons Auger, os quais são de alta intensidade para elementos leves. Este efeito consiste na absorção do raios X (emitido pelo efeito fotoelétrico) por um elétron da camada mais externa, sendo este ejetado, conforme ilustrado na Figura 4. Este efeito reduz drasticamente a intensidade de raio X emitida por elementos leves, muitas vezes impossibilitando a sua quantificação. Conforme visto na Figura 3 o rendimento das transições K para elementos com $Z < 20$ e L com $Z < 60$ são extremamente baixos[27].

Figura 4 - Representação do efeito Auger.



Fonte: [27]

Como todos os fótons de raios X emitidos são característicos para cada átomo e a intensidade destes fótons é proporcional à concentração do elemento de origem, isto possibilita a identificação e quantificação de elementos de interesse.

3.3.3. Espalhamento de raios X

O espalhamento da radiação X ocorre quando um fóton de raios X interage com os elétrons dos elementos químicos, sem que ocorra os fenômenos quantizados de absorção/emissão de energia pelo átomo. Esses efeitos acontecem concomitantemente ao efeito fotoelétrico, sendo o efeito de espalhamento mais acentuado para os elementos que apresentam baixos coeficientes de absorção para a radiação X (elementos com baixo Z) [27].

O espalhamento Rayleigh, também chamado de espalhamento coerente, ocorre quando a interação entre os fótons da fonte de excitação e os elétrons das camadas externas

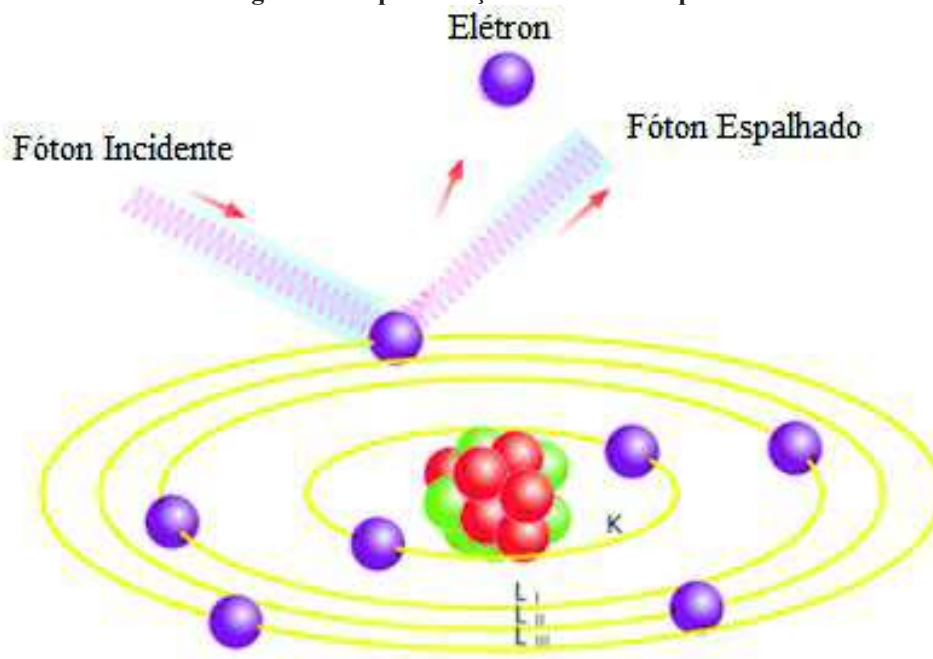
do átomo é elástica, ou seja, quando não há perda de energia durante o processo de colisão, representado na Figura 5. Todos os átomos espalham fótons de raios X pelo processo Rayleigh a uma maior ou menor extensão, embora a intensidade do espalhamento esteja relacionada ao número atômico[31].



Fonte: [29]

O espalhamento Compton, também chamado de espalhamento incoerente, ocorre quando os fótons espalhados dispersam uma pequena parte de sua energia durante a colisão, especialmente quando o elétron que colide com o fóton está ligado fracamente ao átomo[27], representado na Figura 6. Segundo Compton, os raios espalhados sofrem mudanças no comprimento de onda, caracterizadas por um aumento no seu tamanho[32]. Nesse trabalho, Compton denominava os efeitos de espalhamento como as linhas “não modificadas” e linhas “modificadas”, o que hoje correspondem aos fenômenos Rayleigh e Compton.

Figura 6 - Representação do efeito Compton.



Fonte: [29]

As intensidades relativas destes fenômenos dependem também da composição da matriz da amostra e aumentam proporcionalmente com a diminuição da massa molar média da amostra. Portanto, amostras com grande quantidade de átomos leves (amostras orgânicas, por exemplo) apresentam espalhamento muito intenso[27].

Considerando as aplicações da XRF tradicional, o espalhamento da radiação incidente sempre foi considerado muito indesejável. Este efeito tem sido estudado com a ajuda de métodos matemáticos sofisticados com a finalidade de utilizá-lo na correção de resultados quantitativos [33]. Outra tentativa é a de minimizar estes efeitos, já que eles contribuem fortemente para a radiação de fundo, dificultando o monitoramento de sinais de certos elementos químicos [34].

3.3.4. Instrumentação

A utilização da técnica EDXRF na quantificação de elementos só foi possível após o surgimento do detector semicondutor de Si(Li), capaz de discriminar raios X de energias próximas. A maioria dos instrumentos de EDXRF consiste somente de duas unidades básicas: a fonte de excitação e o sistema de detecção, que emprega um sistema eletrônico aliado ao detector para obtenção, amplificação, registro e interpretação do sinal. Existem no mercado diversos equipamentos de EDXRF, que apesar de possuírem as mesmas unidades básicas divergem significativamente entre si[29].

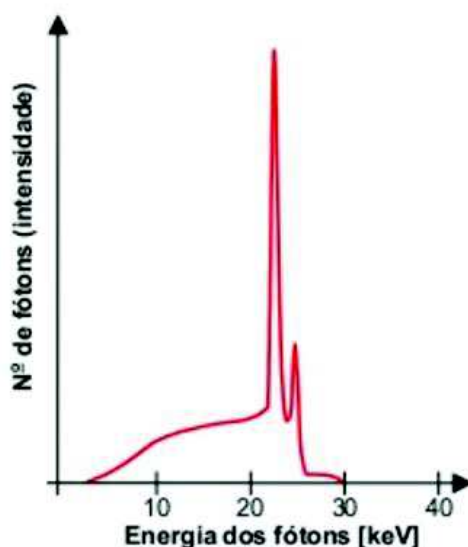
A fonte de raios X pode ser através de um elemento radioativo como, por exemplo: Cd, Am, Pu, assim como por um tubo de raios X. Os tubos são mais utilizados pela versatilidade e por apresentarem menor risco, pois só irradiam raios X quando energizados.

O tubo de raios X é constituído por um cátodo e um ânodo. O cátodo é responsável por emitir elétrons e focalizá-los em forma de um feixe bem definido apontado para o ânodo. O cátodo é constituído de duas partes principais: o filamento e o copo focalizador. O filamento é constituído geralmente de W para suportar a alta temperatura que deve atingir para emitir os elétrons. Quanto maior a corrente, mais aquecido será o filamento e mais elétrons serão emitidos do cátodo para o ânodo[35].

Estes elétrons são acelerados, por uma diferença de potencial, em direção a um alvo (ânodo). Quando o feixe de elétrons é desacelerado no alvo, são emitidos raios X de energia contínua (radiação de Bremsstrahlung ou radiação de freiamto). A máxima energia (em keV) será correspondente à voltagem do tubo (kV), proveniente de uma desaceleração completa do elétron em uma só etapa. Além disso, há a produção de raios X característicos vindos do material que compõem o ânodo, devido à ionização das camadas mais internas dos átomos[35].

A Figura 7 mostra o espectro gerado pelo tubo de ânodo de Rh utilizado neste estudo, onde podem ser observadas as linhas características 20,21 keV ($K\alpha$) e 22,72 keV ($K\beta$) e a radiação de fundo.

Figura 7 - Espectro gerado por um tubo de raio X com alvo de Rh e tensão de 30kV



Fonte: [36]

O sistema de detecção é composto por um detector semiconductor de Si (Li), Si-PIN ou mais recentemente Si-Drift, acoplado a sistemas eletrônicos. A interação dos raios X a serem detectados no silício se dá através do deslocamento de elétrons do semiconductor que são separados pela polarização, sendo coletados na superfície dos eletrodos gerando um pulso no sistema eletrônico, sendo que as amplitudes destes pulsos são diretamente proporcionais às energias dos raios X[29,35].

A principal desvantagem deste detector é a corrente de fundo gerada pela presença de impurezas ou pela excitação térmica aleatória de elétrons (através da abertura entre as bandas de condução e de valência). A fim de minimizar este efeito, o detector deve ser mantido permanentemente à temperaturas abaixo de $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ obtidas com o uso de $\text{N}_2(\text{l})$ ou por efeito peltier de resfriamento eletrônico. Outra desvantagem é a necessidade de se manter a pureza do cristal, sendo necessário o isolamento do ambiente. Com esta finalidade, o detector é montado sob vácuo, atrás de uma janela de Be. No entanto esta janela absorve todo raio-X abaixo de $0,75\text{keV}$, o que prejudica a análise de elementos com $Z > 7$ [35].

3.4. Análise estatística

3.4.1. Análise multivariada e pré processamento de dados

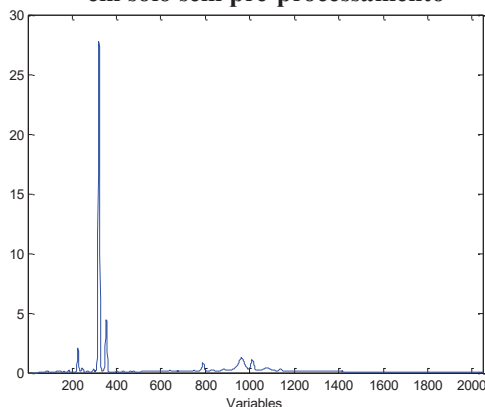
Durante muito tempo, em análises instrumentais, obtinha-se um único sinal de um equipamento que era transformado no resultado desejado. Este tipo de análise ainda é muito comum, mas com o desenvolvimento da tecnologia e a possibilidade de aquisição de dados cada vez maior, atualmente existem equipamentos que fornecem uma infinidade de dados em segundos. Seria um desperdício não aproveitar o máximo de toda informação adquirida. Este é um dos motivos que deram origem a análise multivariada, capaz de trabalhar com uma grande quantidade de dados de entrada e extrair a informação de interesse [37,38].

A análise multivariada aplicada à análise espectroscópica possibilita diversas melhorias, como a maior precisão dos resultados, eliminação de interferentes e a possibilidade de extrair informações que não estão explícitas, conforme demonstrado neste trabalho.

Antes de desenvolver qualquer modelo multivariado recomenda-se um pré-processamento dos dados para eliminar amostras anômalas, minimizar ruídos e informações superpostas de espécies de interesse, bem como de interferentes [39].

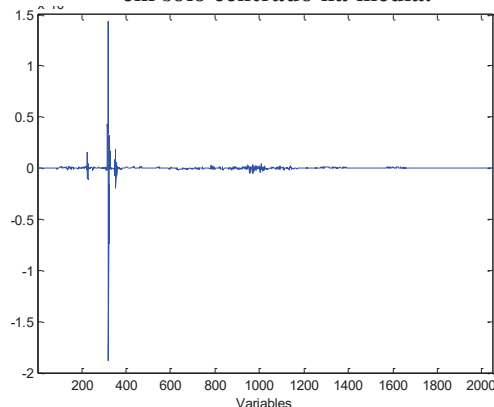
A centralização dos dados em torno da média é comumente empregada em dados espectrais pois previne que os pontos mais distantes do centro dos dados tenham maior influência que os mais próximos. Este pré-processamento consiste na subtração do valor médio de cada variável de entrada em cada dado da entrada. Após centrar os dados, os dados serão compostos por valores positivos e negativos, e a média dos dados de cada variável será igual à zero [39]. Para ilustrar a centralização em torno da média, a Figura 8 mostra os dados sem pré-processamento e a Figura 9 mostra os dados após a centralização.

Figura 8 - Espectro característico de EDXRF em solo sem pré-processamento



Fonte: O autor.

Figura 9 - Espectro característico de EDXRF em solo centrado na média.



Fonte: O autor.

A análise multivariada é composta por diversas ferramentas, dentre elas a Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) e a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLSR, do inglês *Partial Least Square Regression*), os quais foram empregados neste estudo e são descritas a seguir.

3.4.2. Análise dos Componentes Principais

A PCA é uma ferramenta estatística multivariada que permite a visualização de informações importantes do conjunto de dados que auxiliam a sua interpretação e entendimento. Esta técnica é baseada na redução da dimensão original dos dados através da rotação dos eixos originais em novos eixos, gerando novos conjuntos cujas variáveis são denominadas componentes principais (PC's). A PCA é classificada como uma análise exploratória não supervisionada, uma vez que nenhuma informação com relação à identidade das amostras é levada em consideração[40].

O procedimento de PCA decompõe a matriz original de dados X em um produto de outras duas matrizes denominadas T (*scores*) e P^t (*loadings*). Os resíduos desta decomposição ficam contidos em uma matriz de erro E conforme mostra a Figura 10. A matriz de *scores* traz informações relacionadas às amostras, representando-as em um novo sistema de coordenadas, formado pelas PC's. A matriz de *loadings* traz informações das variáveis originais, representando o quanto esta contribui para a formação de cada uma das PC's[41].

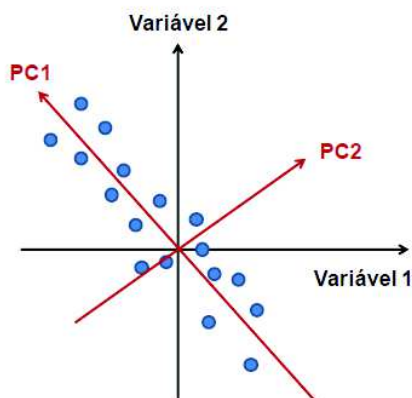
Figura 10 - Representação da decomposição de uma matriz por PCA.

$$\begin{array}{c} n \\ \boxed{X} \\ m \end{array} = \begin{array}{c} d \\ \boxed{T} \\ m \end{array} \times \begin{array}{c} n \\ \boxed{P^t} \\ d \end{array} + \begin{array}{c} n \\ \boxed{E} \\ m \end{array}$$

Fonte: [41]

Cada PC é construída pela combinação linear das variáveis originais. A primeira componente principal (PC1) é traçada na direção da maior variabilidade nos dados; a segunda (PC2) é traçada ortogonalmente à primeira, descrevendo a maior variação não contida na PC1 e assim sucessivamente, conforme ilustração da Figura 11. Ao plotar o gráfico de *scores* de uma PC por outra (PC1 *versus* PC2 por exemplo), amostras com características semelhantes podem se agrupar. O agrupamento ocorre em amostras que contem contribuição semelhante (índices de *scores*) em cada PC. Ou seja, a análise dos *loadings* possibilita a identificação de quais variáveis originais estão contribuindo para os agrupamentos e a análise dos *scores* possibilita a identificação de amostras semelhantes[42].

Figura 11 - Representação da obtenção das PC's em um conjunto de dados bidimensionais



Fonte: [42]

3.4.3. Regressão por Mínimos Quadrados Parciais

A PLSR é uma ferramenta estatística multivariada que permite estabelecer a correlação entre um conjunto grande de variáveis e um parâmetro de interesse, através da redução da dimensão do conjunto de dados, semelhante ao PCA. As matrizes originais são organizadas agrupando as variáveis de entrada, tais como espectros, na matriz X, e as propriedades de interesse, organizadas em outra matriz, denominada Y. Os parâmetros de interesse podem ser características biológicas, físicas ou químicas como, por exemplo, a concentração de um analito[41].

A matriz X é decomposta por PCA como na Equação 3 e a matriz Y é decomposta de forma análoga de acordo com a Equação 4.

$$X = TP^t + E \quad \text{Equação 3}$$

$$Y = UQ^t + F \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

X é a matriz das variáveis independentes

Y é a matriz dos parâmetros de interesse

T e U são as matrizes dos *Scores*

P e Q são as matrizes dos *loadings*

E e F são as matrizes dos erros .

Os *scores* nas matrizes T e U são alterados até que o melhor modelo linear seja estabelecido entre eles e assim, a maior covariância entre X e Y seja obtida. Isso é realizado em várias etapas, que são repetidas para cada PC a partir de um processo iterativo. Deste modo, há na PLSR um compromisso entre a explicação da variância em X e a obtenção da maior correlação com Y. Como no cálculo das PCs, os valores da propriedade de interesse presentes em Y são levados em consideração (sendo, portanto um método supervisionado), as PCs passam a ser nomeadas de variáveis latentes (LV)[41].

O número de LV a ser utilizado é comumente selecionado por validação cruzada com o procedimento leave-one-out (“um por vez”). Neste processo, uma amostra do conjunto de calibração é excluída, o modelo é estabelecido com as demais e é realizada a previsão do parâmetro de interesse para esta amostra empregando um número crescente de LV. Este artifício é então repetido para todas as amostras e um erro é calculado para cada número de LV. O valor de LV a partir do qual não existe variação considerável no erro é utilizado para determinar o número de LV a ser utilizado no modelo[41,43].

Definido o número de LV e obtido o modelo de regressão, este deve ser testado por validação externa, com amostras que não foram utilizadas na etapa de calibração. Estas amostras devem ter seus valores do parâmetro de interesse previamente conhecidos, para verificar a capacidade de previsão do modelo[42].

Um parâmetro comumente utilizado como forma de avaliar a qualidade do modelo é o Erro Quadrático Médio (RMSE, do inglês “*Root Mean Squares Error*”) a qual representa o desvio padrão dos resíduos, conforme mostra a Equação 5:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n}} \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

n = número de amostras da previsão,

y_i = valores observados,

\hat{y}_i = valores preditos.

Este parâmetro quando aplicado as amostras de calibração é denominado Erro Quadrático Médio de Calibração (RMSEC, do inglês “*Root Mean Squares Error of Calibration*”), quando aplicado as amostras preditas é denominado Erro Quadrático Médio de Predição (RMSEP, do inglês “*Root Mean Squares Error of Prediction*”) e quando aplicado aos valores obtidos na validação cruzada é denominado Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada (RMSECV, do inglês “*Root Mean Squares Error of Cross Validation*”)[41].

3.4.4. Teste *t*-pareado

O teste-*t* é muito conhecido na estatística como referência na comparação de grupos amostrais. Uma das variações deste é o teste *t*-pareado, o qual deve ser utilizado quando se possui dados que apresentem dependência entre as populações analisadas. Ou seja, podemos considerar que temos na realidade um grupo amostral em pares $(X_1; Y_1), (X_2; Y_2), \dots, (X_n; Y_n)$, como no caso onde se analisam diversas amostras, com uma ampla faixa de teor, por métodos distintos e deseja-se verificar se os métodos são semelhantes.

Neste caso é analisada a variância entre a diferença de cada par de dados, e não a variância do conjunto amostral como no teste-*t*. Isto possibilita reduzir a interferência da ampla faixa de trabalho.

O teste t -pareado serve para verificar hipóteses, sendo que estas devem ser previamente estipuladas, a fim de identificar se é uma análise bi ou monocaudal e encontrar o valor máximo tabelado (t_{tab}). Caso esteja verificando se a média da diferença de um conjunto (μ_D) é superior ou inferior a zero, trata-se de uma análise monocaudal. Caso esteja verificando se μ_D é igual ou diferente de zero trata-se de uma análise bicaudal.

Em uma análise monocaudal tem-se:

Hipótese nula : $H_0: \mu_D = 0$

Hipótese alternativa: $H_1: \mu_D < ou > 0$

Em uma análise bicaudal tem-se:

Hipótese nula : $H_0: \mu_D = 0$

Hipótese alternativa: $H_1: \mu_D \neq 0$

Estabelecidas as hipóteses, calcula-se então μ_D e a relativa variância das diferenças (σ_D^2) segundo as Equações 6 e 7:

$$\mu_D = \bar{D} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (X_i - Y_i) \quad \text{Equação 6}$$

$$\sigma_D^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (D_i - \mu_D)^2}{n-1} \quad \text{Equação 7}$$

Onde: $D_i = (X_i - Y_i)$

O teste será realizado pela Equação 8:

$$t_{\text{calc}} = \frac{\mu_D}{\frac{\sigma_D}{\sqrt{n}}} \quad \text{Equação 8}$$

Se $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$ aceita-se H_0 e rejeita-se H_1 , se $t_{\text{calc}} > t_{\text{tab}}$ aceita-se H_1 e rejeita-se H_0 .

3.4.5. T^2 -Hotelling

As informações descritas abaixo foram baseadas no texto de Ferreira (1996) [42]. Em uma análise univariada, com o objetivo de verificar se um determinado valor médio amostral μ_0 é um valor plausível para a média da população estudada, aplica-se o já conhecido teste de hipóteses dado por:

$H_0 : \mu = \mu_0$

$H_1 : \mu \neq \mu_0$

Onde:

H_0 é a hipótese nula e representa que as médias são iguais

H_1 é a hipótese (bilateral) alternativa e representa que as médias são diferentes.

Se uma amostra aleatória (X_1, X_2, \dots, X_n) , extraída de uma população normal, o teste estatístico apropriado para esta hipótese, quando o número de variáveis (p) é igual a 1, é dado pelo teste- t representado na Equação 9:

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} \quad \text{Equação 9}$$

Onde:

\bar{X} = média amostral

μ =média populacional

σ =desvio padrão amostral

n =número de amostras

O teste em questão segue a distribuição de t -student com $n-1$ graus de liberdade. A hipótese H_0 será rejeitada se o valor observado de t exceder um valor crítico especificado da distribuição de t -student com $n-1$ graus de liberdade (GL).

Analogamente, em conjuntos multivariados, consideramos o vetor que representa a distância quadrada da média amostral \bar{X} para o vetor a ser testado μ_0 . Rejeita-se H_0 a um nível de significância α , se a Equação 10 é satisfeita:

$$t^2 = n(\bar{X} - \mu_0)(S^2)^{-1} (\bar{X} - \mu_0) \geq t^2_{n-1} \left(\frac{\alpha}{2} \right) \quad \text{Equação 10}$$

Em que, $t^2_{n-1} \left(\frac{\alpha}{2} \right)$ representa o quantil quadrático superior $100(\alpha/2)$ da distribuição de t -student com $(n-1)$ GL. Se H_0 não é rejeitada, então pode-se concluir que μ_0 é um valor plausível para representar a média populacional normal. No entanto, existe um conjunto de valores plausíveis que serviriam como média para a população normal estudada. Através da correspondência entre a região de aceitação dos testes de hipóteses e o intervalo de confiança para μ tem-se:

$$\left| \frac{\bar{X} - \mu_0}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} \right| < t_{(n-1)} \left(\frac{\alpha}{2} \right) \text{ (não rejeitar } H_0) \text{ é equivalente a satisfazer a Equação 11:}$$

$$\bar{X} - t_{n-1} \left(\frac{\alpha}{2} \right) \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \leq \mu_0 \leq \bar{X} + t_{n-1} \left(\frac{\alpha}{2} \right) \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad \text{Equação 11}$$

Antes da amostra ser retirada, o intervalo de confiança de $100(1-\alpha)\%$ da equação acima é um intervalo aleatório, pois seus limites dependem das variáveis aleatórias X e σ . A probabilidade do intervalo conter μ é $100(1-\alpha)\%$ e entre um grande número independentes de tais intervalos, $100(1-\alpha)\%$ deles conterão μ .

Sendo assim podemos generalizar para o caso multivariado. O problema de determinar se um dado vetor μ_0 ($p \times 1$) é um valor plausível da média de uma distribuição normal multivariada. Uma generalização da distância quadrada apresentada na Equação 8 é

apresentada na Equação 12:

$$T^2 = n(\bar{X} - \mu_0)^t S^{-1} (\bar{X} - \mu_0) \quad \text{Equação 12}$$

em que:

\bar{X} =vetor média amostral

$$S = \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (X_j - \bar{X})(X_j - \bar{X})^t$$

$$\mu_0 = \begin{bmatrix} \mu_{01} \\ \mu_{02} \\ \vdots \\ \mu_{0p} \end{bmatrix}$$

A estatística T^2 é chamada de T^2 -Hotelling, em honra a Harold Hotelling, um pioneiro da estatística multivariada, que pela primeira vez obteve a sua distribuição. Tabelas dos pontos percentuais para a distribuição T^2 não são necessárias pois a mesma segue a distribuição apresentada na Equação 13:

$$T^2 = \frac{(n-1)p}{(n-p)} F_{p,n-p} \quad \text{Equação 13}$$

Em que, $F_{p,n-p}$ representa uma variável com distribuição F com p variáveis e n-p GL. Desta forma para se testar a hipótese $H_0 : \mu = \mu_0$ versus $H_1 : \mu \neq \mu_0$, no valor nominal α de significância, deve-se rejeitar H_0 em favor de H_1 se a Equação 14 for satisfeita:

$$T^2 = n(\bar{X} - \mu_0)^t S^{-1} (\bar{X} - \mu_0) > \frac{(n-1)p}{n-p} F_{p,n-p}(\alpha) \quad \text{Equação 14}$$

3.4.6. Rotina Kennard & Stone

A possibilidade de obtenção de grandes quantidades de dados, citada anteriormente, torna cada vez maior o número de amostras analisadas em estudos. O grande volume de amostras dificulta a seleção de um subconjunto independente para validação externa, o qual represente a informação do conjunto original.

Existem muitos métodos de seleção de subconjunto e sua escolha depende do problema em questão. Um dos métodos que vem sendo empregado com frequência em dados espectrais é a rotina Kennard e Stone (1969)[44], a qual visa selecionar um subconjunto de dados n-dimensional, “uniformemente” distribuído no espaço experimental.

A seleção de dados segundo a rotina de Kennard e Stone ocorre seguindo a seguinte lógica: o primeiro dado a ser selecionado é o objeto central, o qual é o mais representativo do conjunto. O segundo é o objeto mais distante deste. O terceiro é o mais

distante de ambos já selecionados. O cálculo é repetido e, os dados mais distantes do conjunto selecionado são incluídos, até obter-se o número de dados desejado.

3.5. Validação de métodos e Figuras de mérito

Se um método totalmente novo é desenvolvido, o mesmo deve atender a determinados requisitos para as operações analíticas pretendidas. Estes requisitos são baseados na finalidade de aplicação da análise.

Como forma de avaliar a qualidade de uma metodologia existem diversos parâmetros de validação ou Figuras de Mérito que podem ser estabelecidas. Estes parâmetros auxiliam também na escolha do melhor custo/benefício ao ter que optar por um método analítico. Neste trabalho foram avaliadas a exatidão e a precisão na forma de repetibilidade.

3.5.1. Exatidão

Uma definição para exatidão é encontrada no documento: “Vocabulário Internacional de Termos de Metrologia Legal – VIM”[45] fornecido pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – INMETRO:

“Grau de concordância entre um valor medido e um valor verdadeiro dum mensurando.”

Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método se dá através da análise da tendência ou desvio relativo. A tendência é o resultado de uma combinação de erros aleatórios e sistemáticos. Como forma de avaliar estes parâmetros podem ser utilizados materiais de referência certificados, participação em comparações interlaboratoriais, realização de ensaios de recuperação e comparação com um outro método de referência [46,47].

O erro médio de previsão da propriedade de interesse pode ser utilizado como uma estimativa da exatidão quando se utiliza calibração multivariada, valor este facilmente obtido por meio do RMSEP[47].

Na comparação de resultados entre os dois métodos distintos, a exatidão pode ser avaliada de duas maneiras, provando com um teste *t*-pareado que os conjuntos de dados não diferem estatisticamente entre si, e através da análise dos valores da inclinação e do

intercepto de uma reta ajustada entre os valores obtidos pelo método de referência e os estimados pelo modelo. Neste caso, os valores esperados são, 1 para inclinação e 0 para intercepto. Valores estimados para a inclinação e intercepto que não contenham os valores esperados dentro de seus intervalos de confiança indicam erros sistemáticos, proporcionais e constantes, respectivamente[47].

3.5.2. Precisão

Uma definição para precisão também pode ser encontrada no documento: “Vocabulário Internacional de Termos de Metrologia Legal – VIM”[45] fornecido pelo INMETRO.

“Grau de concordância entre indicações ou valores medidos, obtidos por medições repetidas, no mesmo objeto ou em objetos similares, sob condições especificadas.”

A precisão é geralmente dependente da concentração do analito e, deste modo, é melhor representada pelo desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), pois foi normalizado com base na concentração e deste modo ele é praticamente constante ao longo da faixa de interesse[46].

Seguindo as condições específicas, citadas na definição, temos três formas mais comuns de cálculo e expressão para precisão. Através da repetibilidade, precisão intermediária e a reprodutibilidade, sendo usualmente expressas pelo desvio-padrão. Neste estudo será utilizada apenas a repetibilidade.

3.5.2.1. Repetibilidade

É definida segundo o VIM[45] como:

“Precisão de medição sob um conjunto de condições de repetibilidade.”

As condições de repetibilidade são:

- Mesmo procedimento;
- Mesmo analista;
- Mesmo instrumento usado sob mesmas condições;
- Mesmo local,
- Repetições em curto espaço de tempo.

O cálculo da repetibilidade possibilita ao analista decidir se a diferença entre análises duplicatas de uma amostra, determinada sob condições de repetibilidade, é significativa ou não[46].

O limite de repetibilidade (r), entre duplicatas, para um nível de significância de 95%, em resultados com variação homogênea, é dado na Equação 15[46]:

$$r = 2,8 \times S_r \quad \text{Equação 15}$$

onde:

S_r = desvio-padrão de repetibilidade associada aos resultados considerados.

3.5.2.2. Comparação da precisão entre métodos

A fim de comparar métodos distintos, em termos de precisão, sendo todos com exatidão adequada, pode-se recorrer a um teste de variância, como o teste F. Este baseia-se no cálculo da razão entre as variâncias sendo representado na Equação 16:

$$F_{calculado} = \frac{\sigma^2_{maior}}{\sigma^2_{menor}} \quad \text{Equação 16}$$

Onde o valor calculado de F deve ser menor ou igual ao tabelado para que os dois métodos não apresentem diferenças significativas de precisão entre si[46].

3.5.3. Desvio Relativo

Com a finalidade de estimar a diferença entre duas medidas, calculou-se o desvio relativo (DR), que é a diferença percentual entre os teores obtidos pelo método tomado como referência e o estimado pelo método estudado, conforme a Equação 17:

$$DR = \frac{|T_m - T_r|}{T_r} \times 100\%$$

Onde:

T_m = teor medido pelo método em estudo.

T_r = teor medido no método de referência.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Métodos para determinação de COT e MO

Nos Estados Unidos, desde o ano de 2000, órgãos como a Natural Resources Conservation Service (NRCS) e a National Soil Survey Center (NSSC) proibiram análises de COT em solos com oxidação por $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ devido às preocupações ambientais sobre a geração de resíduos tóxicos[20]. Uma metodologia alternativa, baseada em perda de massa em mufla esta descrita no *Soil Survey Field and Laboratory Methods Manual* [48]. A questão ambiental aliada à alta demanda por análises de solo motivou a busca por metodologias alternativas, dentre elas pode-se resaltar:

Miyazawa et al., no ano de 2000, compararam os métodos gravimétrico em mufla (para diversos tempos e temperaturas) e TGA com o método WB. A perda de massa por termogravimetria (entre 110 e 420°C) e por incineração a 300°C obteve boa relação ($y = 0,1632 + 1,0556x$, $r = 0,986$). A perda de massa por incineração (300°C) para 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; e 18,0 horas foi exatamente a mesma. O método gravimétrico em mufla a 300°C, quando comparado com o WB, apresentou correlação segundo a equação $y = 3,720x + 0,2914$. $r = 0,937$. O coeficiente 3,720 (fator de Van Bemmelen), o qual é extremamente alto, foi atribuído ao maior grau de oxidação da MO dos solos das regiões tropicais [17].

A divisão de solos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) divulgou no ano de 1999, um estudo comparativo entre quatro métodos: WB modificado; gravimétrico em mufla a 400°C durante a noite em amostras de Terra Fina Seca ao Ar (TFSA) e maceradas; gravimétrico em mufla a 600°C por 6 horas em amostras indeformadas, TFSA e maceradas e; analisador elementar CHN em amostras de TFSA. Foram avaliadas 27 amostras superficiais e subsuperficiais de solos orgânicos da Baixada Litorânea, RJ. Os resultados por incineração em mufla apresentaram comportamento semelhante, onde os coeficientes de determinação (R^2) obtidos foram 0,960 e 0,968 para amostras de TFSA e maceradas respectivamente. O R^2 entre os métodos WB e gravimétrico com amostras maceradas foi de 0,968. O teor de C determinado pelo analisador elementar e a perda de massa determinada por gravimetria em amostras maceradas apresentaram alto R^2 , 0,968. O fator de Van Bemmelen médio, encontrado para o método gravimétrico a 400 e 600°C em amostras TFSA e maceradas quando comparadas com o método WB, foi de 3,18, confirmando novamente os estudos realizados no Brasil[1]. Por meio dos dados apresentados neste estudo, foi possível estimar o desvio relativo (DR)

médio do método WB em 17% quando comparado com a análise elementar. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Desvio Relativo (DR) calculado a partir de resultados apresentados por Conceição et. al. (1999) entre os métodos Walkley-Black (WB) e Análise Elementar (AE).

C (gKg-1)			C (gKg-1)			C (gKg-1)		
WB	AE	DR(%)	WB	AE	DR(%)	WB	AE	DR(%)
115,7	137,6	16	164,9	187,4	12	116,1	139,6	17
119,6	137,7	13	88,8	104,6	15	117,6	151,4	22
271,0	278,9	3	90,8	107,2	15	28,0	28,1	0
289,5	363,6	20	48,9	69,7	30	43,7	53,0	18
145,6	148,7	2	44,7	61,3	27	51,9	71,4	27
176,9	211,4	16	95,9	122,1	21	187,7	215,3	13
247,0	327,1	24	83,2	118,7	30	47,4	56,4	16
227,2	244,6	7	40,2	51,3	22	97,1	112,3	14
163,2	188,8	14	35,4	49,4	28	54,3	64,1	15
Continua =>			Continua =>			Média		17

Fonte: [4]

4.2. Aplicações de EDXRF em solos

Alguns estudos relatam a utilização de análise estatística multivariada para quantificação de parâmetros do solo e elementos leves, explorando uma potencialidade não convencional da EDXRF para solos.

Zhu et al. (2011) através da análise de 584 amostras de solo, elaboraram um modelo para determinação dos teores de areia, silte e argila através da leitura em um equipamento portátil de EDXRF (PXRF, do inglês, *Portable X-ray Fluorescence*) por 90 segundos e regressão linear múltipla. Os valores para R^2 foram: 0,854; 0,682; 0,975 e os valores de RMSE foram: 5,53%; 5,92%; 2,68% , para areia, silte e argila respectivamente em amostras de Louisiana e R^2 de 0,891; 0,875 e 0,876, e RMSE: 6,26 %; 5,43% e 2,66% para areia, silte e argila respectivamente em amostras do Novo México EUA [49].

Em 2012, Kaniu et al. compararam duas ferramentas estatísticas, a PLSR e Redes Neurais Artificiais (do inglês *artificial neural networks*, ANN), aplicados na região de espalhamento do espectro de EDXRF, para determinação de 5 nutrientes em solos (C, N, Na, Mg e P), onde destacou-se o método de PLSR por apresentar melhor R^2 e menor erro padrão de previsão (SEP, do inglês *Standard Error of Prediction*) conforme mostrado na Tabela 2[50]. Especificamente para análise de COT, pode-se observar na Tabela 3 um desvio relativo médio de 42%, no entanto este estudo demonstra a possibilidade de aplicação da técnica.

Tabela 2 - Valores do erro padrão de previsão (SEP) e R² obtidos por Kaniu et. al (2012).

Elemento	Unidade	Z ¹	Técnica	SEP	R ²
C ³	(%)	6	PLSR ²	0,05	0,93
			ANNs ⁴	0,83	0,85
N	(%)	7	PLSR ²	0,01	0,97
			ANNs ⁴	0,02	0,80
Na	(%)	11	PLSR ²	0,01	0,98
			ANNs ⁴	0,02	0,80
Mg	(%)	12	PLSR ²	0,21	0,91
			ANNs ⁴	0,08	0,99
P	(ugg-1)	15	PLSR ²	1,98	0,98
			ANNs ⁴	6,72	0,92

¹ Número Atômico, ² Regressão por Mínimos Quadrados Parciais, ³ Orgânico, ⁴ Redes Neurais Artificiais

Fonte: [50]

Tabela 3 - Resumo resultados apresentados por Kaniu et. al (2012).

Técnica		DR ³ (%)
WB ¹ (%)	EDXRF ² (%)	
0,99	0,84	15
0,68	0,71	4
0,52	1,08	108
0,52	0,80	54
0,63	0,50	21
0,55	0,92	67
0,83	1,24	49
0,54	0,47	13
0,74	0,65	12
0,65	0,76	17
1,26	0,19	85
0,92	0,69	25
0,37	0,67	81
Média		42

¹ Walkley Balck, ² Fluorescência de raio X por dispersão em energia, ³ Desvio Relativo

Fonte: [50]

Sharma et al. (2014) utilizando regressão linear múltipla desenvolveram um modelo para determinar pH do solo associando com espectro PXRf obtendo coeficientes satisfatórios (R²: 0,772; RMSE: 0,685)[51].

Em outro estudo, Sharma et al. (2015) construíram um modelo utilizando regressão linear múltipla, com 90 amostras de calibração, para análise de CTC de solos em campo, com grande correlação com a análise química (R²:0,904; RMSE: 2,498). Esta determinação é realizada em uma leitura de 90 segundos com PXRf [52].

Wang et al. (2015), em um estudo de associação de técnicas PXRF e espectroscopia na região visível e infravermelha (Vis-NIR) determinaram COT e Nitrogênio Total (NT) em 625 amostras de solo, obtendo $R^2=0,88$ para CT e $R^2=0,89$ para NT quando comparado com a análise elementar[53].

Melquiades et al. (2014) propuseram um técnica para determinação de MO em sedimento de lago utilizando a região de espalhamento de raio X combinada com PLSR. Neste estudo foram analisadas amostras de sedimento superficiais de nove praias artificiais ao longo da barragem de Itaipú. A determinação gravimétrica por 4 horas a 500°C foi utilizada como referencia do teor de MO para elaboração do modelo. Sete amostras foram utilizadas na calibração e duas na validação, todas analisadas em triplicata por ambos os métodos. O desvio relativo para as duas amostras de validação foram de 4 e 8%. O desvio padrão das amostras de validação da EDXRF foi o mesmo encontrado na análise gravimétrica 2,4 e 8,2%. Os bons resultados apresentados neste estudo motivaram o desenvolvimento deste trabalho[7].

5. METODOLOGIA

5.1. Amostragem

As amostras utilizadas neste trabalho foram coletadas por produtores rurais e encaminhadas ao laboratório Agrotecsolo de Guarapuava, no período de 25 de fevereiro a 29 de julho de 2014 para análise de rotina. Esta amostragem nos possibilitou uma retratação real das condições encontradas em um laboratório de solo.

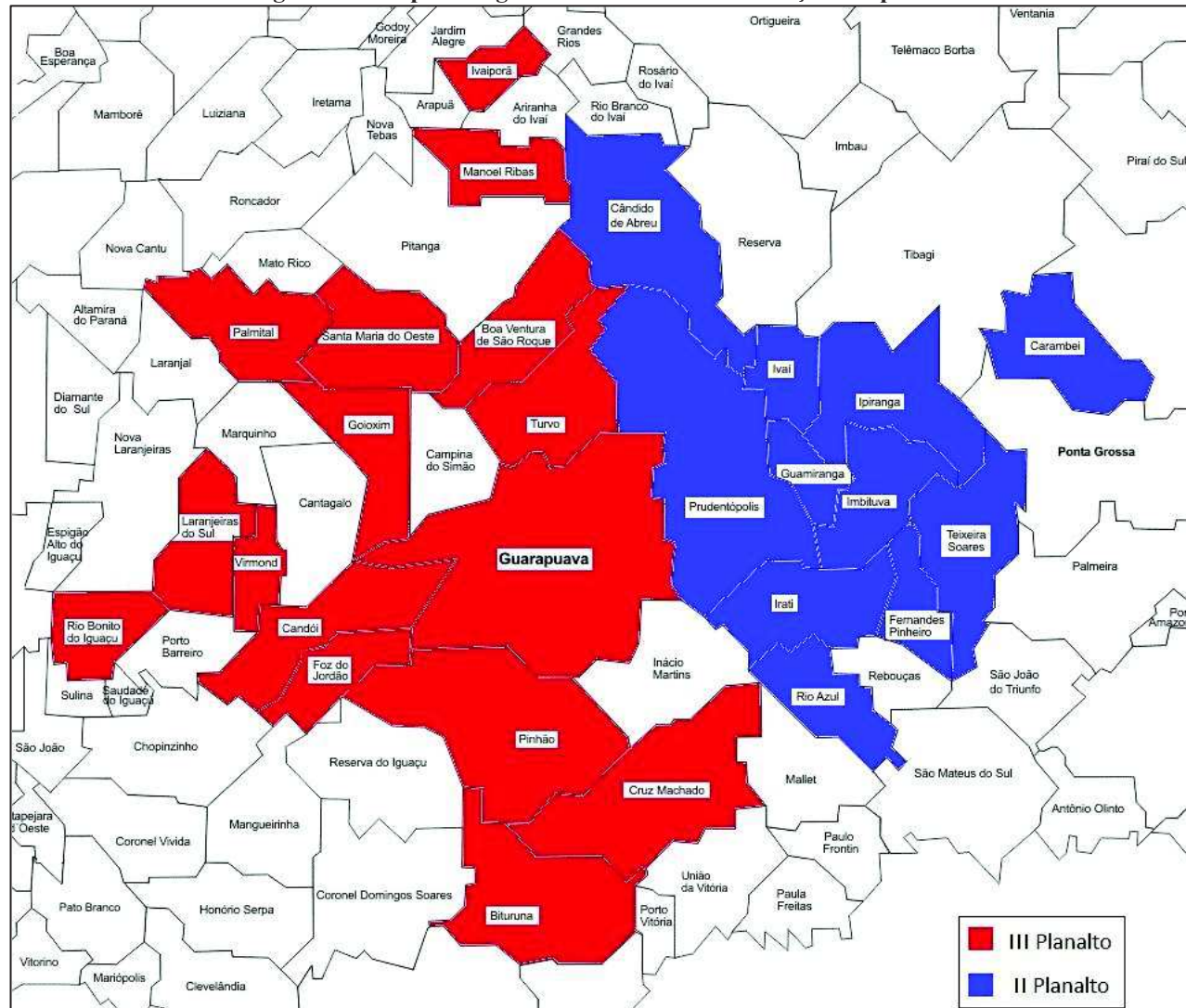
Um total de 152 amostras de solo superficial de cultivo agrícola, com profundidade máxima de 20cm, provenientes de 27 municípios do Paraná, Brasil, representam o conjunto amostral estudado. Estes municípios compreendem boa parte do II e III planaltos deste estado, sendo 103 e 49 amostras respectivamente conforme representado na Figura 12. O conjunto amostral está inserido em quatro bacias hidrográficas: Afluentes do Médio Iguaçu (AMI), Alto Ivaí (AI), Alto Tibagi (AT) e Piquiri – Paraná 2 (PP), sendo 28, 89, 27 e 8 amostras respectivamente, conforme representado na Figura 13.

O número de amostras e respectivas cidades representadas são: 51 de Prudentópolis; 21 de Ivaí; 14 de Ipiranga; 11 de Guarapuava; 10 de Turvo; 6 de Irati; 6 de Cruz Machado; 4 de Goioxim; 3 de Santa Maria; 3 de Bituruna; 2 de cada um dos municípios de Teixeira Soares, Pinhão, Ivaipora, Imbituva, Fernandes Pinheiro e Candido Abreu; 1 de cada um dos municípios de Boa Ventura de São Roque, Candói, Carambei, Foz do Jordão, Guamiranga, Manoel Ribas, Palmital, Rio Azul, Rio Bonito do Iguaçu e Virmond.

5.2. Preparo das amostras

As amostras foram secas ao ar, moídas em graal de porcelana e passadas em peneira de 1 mm², em seguida acondicionadas em sacos plástico e devidamente identificadas. Esta forma de preparação serviu para todos os métodos empregados neste estudo (TGA, WB, Gravimétrico e EDXRF).

Figura 12 - Mapa da região estudada com identificação dos planaltos



Fonte: O autor.

5.3. Determinação WB

Para as 152 amostras avaliadas neste estudo, pesou-se $0,500 \pm 0,005$ g de amostra, previamente preparada, em erlenmeyer de 250 mL, utilizando-se uma pipeta automática, adicionou-se 5 mL da solução de $K_2Cr_2O_7$ 0,167M. Utilizando-se uma pipeta volumétrica, em capela de exaustão, adicionou-se 5 mL de H_2SO_4 concentrado, segurando a borda do erlenmeyer e tomando o devido cuidado com o calor desprendido, agitando-se e aguardando-se 30min.

Adicionou-se diretamente ao erlenmeyer cerca de 50 mL de água deionizada. Com uma pipeta graduada, adicionou-se 2 mL de H_2PO_4 85% e 1 mL de indicador Difenilamina 1% em H_2SO_4 . Procedeu-se a titulação com solução de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 1N até a viragem de azul escuro para verde. Anotou-se o volume dispensado de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 1N [22], e estabeleceu-se o teor de COT de acordo com a Equação 18 [54]:

$$COT(\%) = (5 - V_s) * 0,792 \quad \text{Equação 18}$$

Onde:

5 = volume em mL de $K_2Cr_2O_7$ 1N inicial;

V_s = volume em mL de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 1N gasto na titulação;

0,792 = fator que contempla a quantidade se solo, as concentrações, a estequiometria da reação e as transformações de unidades.

5.4. Análise Termogravimétrica

Em uma amostra, proveniente do município de Guarapuava, centro da região estudada, desenvolveu-se duas análises de TGA no equipamento SDT Q600 pertencente ao Departamento de Física da UNICENTRO. Estas análises tiveram por objetivo determinar os parâmetros ideais para análise da MO pelo método gravimétrico em mufla. A primeira análise foi realizada com o objetivo de determinar a temperatura em que ocorre a perda da MO. Após estabelecida a temperatura ideal, realizou-se a segunda análise de configuração isotérmica a fim de determinar o tempo necessário para combustão completa da MO. Sendo assim estabeleceram-se os parâmetros para a análise gravimétrica. As configurações do equipamento e as condições de medida utilizadas na TGA estão representadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros utilizados na análise termogravimétrica

Parâmetro	Análise 1	Análise 2
Atmosfera	ar ambiente	ar ambiente
Cadinho	Alumina	Alumina
Programação de aquecimento	10°C/min	50°C/min
Fluxo de gás	100mL/min	100mL/min
Massa da amostra	20mg	20mg
Temperatura inicial	Ambiente	420°C
Temperatura final	1000°C	420°C
Tempo total de análise	100min	4h

Fonte: O autor.

5.5. Determinação Gravimétrica em Mufla

Para as amostra dos conjuntos do AT e do AMI, pesou-se um cadinho vazio (C_V), adicionou-se 1,000±0,050 g de solo previamente preparado, pesou-se novamente o cadinho com a amostra (C_A). Levou-se a estufa em 105°C por uma noite (aproximadamente 15h). Retirou-se da estufa para um dessecador, onde permaneceu por meia hora para esfriar a temperatura ambiente. Pesou-se então o cadinho com a amostra seca (C_S). Levou-se a mufla em 420°C por 3 h, retirou-se da mufla para um dessecador, onde permaneceu por uma hora para esfriar a temperatura ambiente. Pesou-se então o cadinho com a amostra calcinada (C_C). efetuou-se o calculo do teor de MO segundo a Equação 17:

$$MO(\%) = \frac{(C_S - C_C)}{(C_S - C_V)} \times 100 \quad \text{Equação 17}$$

Esta determinação foi realizada em duplicata e, então, elaborou-se a média e o desvio padrão de cada amostra. Os parâmetros (temperatura e tempo) utilizados nesta metodologia tem como referência estudo realizado por Miyazawa et. al (2000)[17] e os resultados da TGA realizados previamente com as amostras deste estudo.

5.6. Fluorescência de Raio X por Dispersão em Energia

Para as 152 amostras, retirou-se, com uma espátula, uma alíquota de 3mL de solo previamente preparado e acondicionou-se em suporte porta amostra com filme Mylar®. As medidas foram realizadas em triplicata no equipamento Shimatzu EDX720 pertencente ao Grupo FASCA da UEPG. As configurações do equipamento e as condições de medida utilizadas neste estudo estão representadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Configurações e condições de medidas do equipamento EDX720 Shimadzu.

Parâmetro	Característica / Faixa de trabalho	Valor utilizado
Tensão (kV)	5-50	40
Corrente (μ A)	1-1000	43
Filtros primários	Al, Ti, Ag, Mo, Mo-Ni	Sem filtro
Diâmetro do colimador (mm)	1, 3, 5 e 10	10
Número de canais	2048	2048
Atmosfera	ar ambiente, Vácuo, He	ar ambiente
Tubo de raios X	Alvo de Rh resfriado por ar	-
Detector	Semicondutor de Si(Li) resfriado por N _{2(l)}	-
Tempo de análise	-	100s, tempo morto 40%.

Fonte: O autor.

Realizou-se também três leituras de um porta amostra com filme Mylar® sem solo antes da leitura das amostras para monitorar o equipamento quanto à sua estabilidade e possíveis interferentes.

5.7. Tratamento dos dados.

Com auxílio do software Apache Open Office Calc 4.1.1 elaborou-se uma tabela com todos os espectros, contendo 459 linhas e 2048 colunas, sendo as linhas referentes a cada réplica das 152 amostras e do Mylar® e as colunas cada um dos 2048 canais de leitura do equipamento. Foi gerada a média dos espectros, obtendo-se uma tabela com 153 linhas representando as amostras e o Mylar® e 2048 colunas representando os canais. Elaborou-se também tabelas onde estavam separadas amostras por municípios e por bacias hidrográficas para elaboração de modelos mais regionalizados. Estas tabelas foram exportadas para o software MatLab® Versão. 7.8.0.347 (R2009a) 64bit (The MathWorks).

O conjunto amostral foi dividido em amostras de calibração e validação, procurando manter uma relação aproximada de uma amostra de validação para cada duas amostras de calibração, ou seja, retirou-se 33% das amostras para formar o conjunto de validação. Para esta separação utilizou-se a rotina Kenard&Stone[44]. Realizou-se duas PLSR para o conjunto de dados global, um com o espectro completo e outro com a região de espalhamento. Para os demais conjuntos utilizou-se apenas o espectro inteiro.

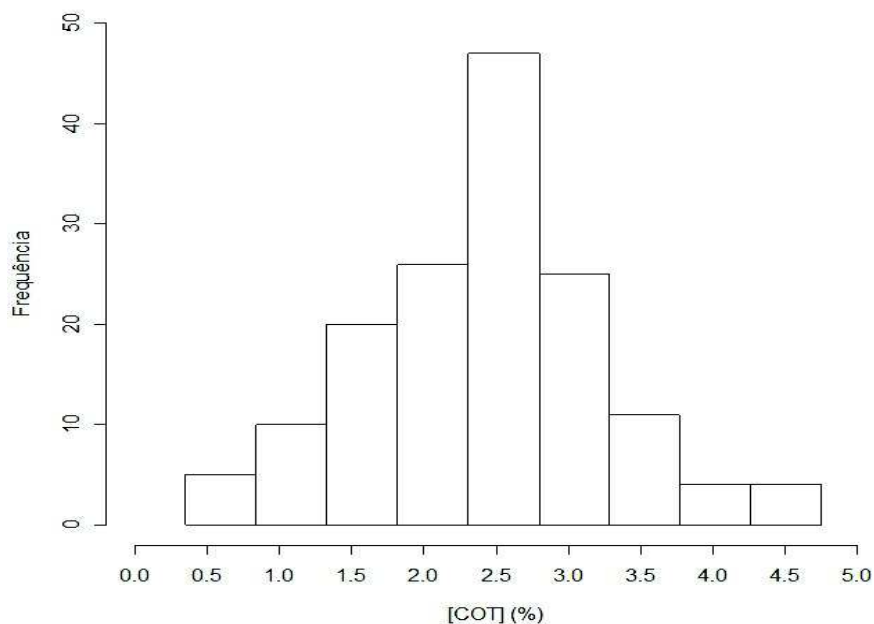
Como forma de avaliar a qualidade dos modelos de PLSR, foram analisados os coeficientes de determinação (R^2) da calibração e da validação. Como estimativa da exatidão do método foram avaliados os valores de RMSEC e RMSEP assim como o teste t -pareado e o desvio relativo médio entre métodos aplicado as amostras de validação.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Método de Walkley-Black

As análises pelo método WB foram realizadas em duplicata, em dias diferentes, no período de fevereiro a junho de 2015. O teor de COT do conjunto amostral está na faixa entre 0,35 e 4,75% com teor médio de 2,42%, refletindo a grande variedade de solos da região. Os dados completos são apresentados no Anexo I. A Figura 14 mostra a normalidade dos dados através da análise de frequência do teor de COT.

Figura 14 - Histograma do teor de Carbono Orgânico Total (COT) obtido pelo método Walkley Black.

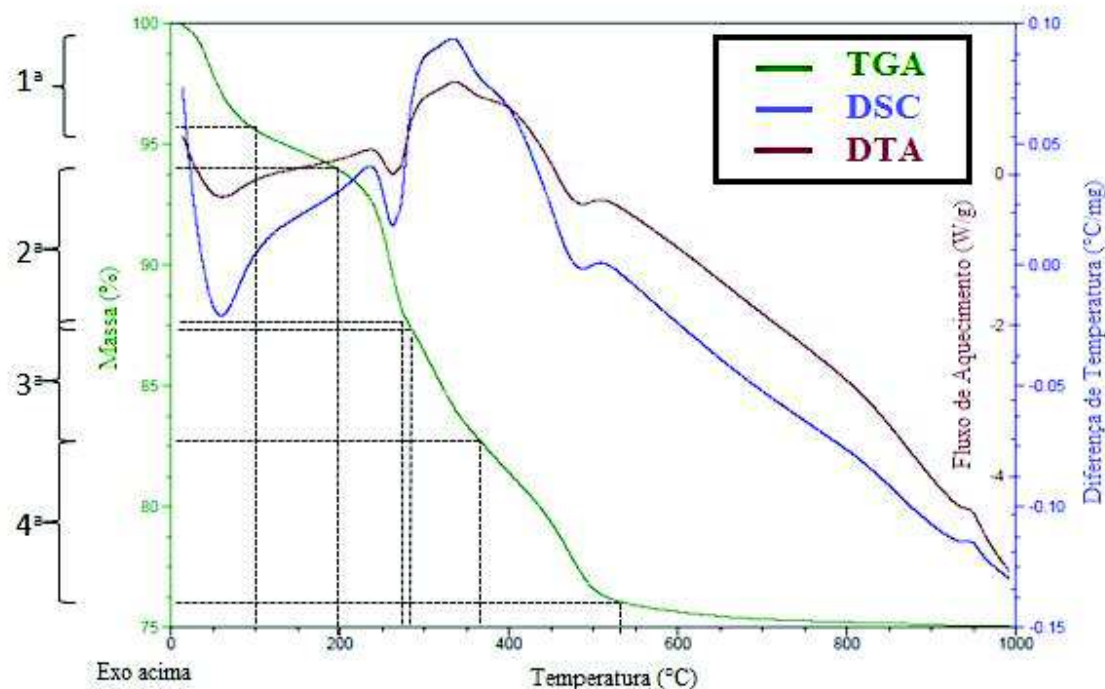


Fonte: O autor.

6.2. Análise Termogravimétrica

As medidas de TGA's foram realizadas no equipamento SDT Q600 da TA Instruments, New Castle, DE, USA. Os gráficos de TGA, DSC e DTA para uma amostra com 3,15% de COT em atmosfera de ar ambiente é mostrado na Figura 15.

Figura 15 - Análise termogravimétrica para uma amostra de solo de Guarapuava com 3,15% de Carbono Orgânico Total.



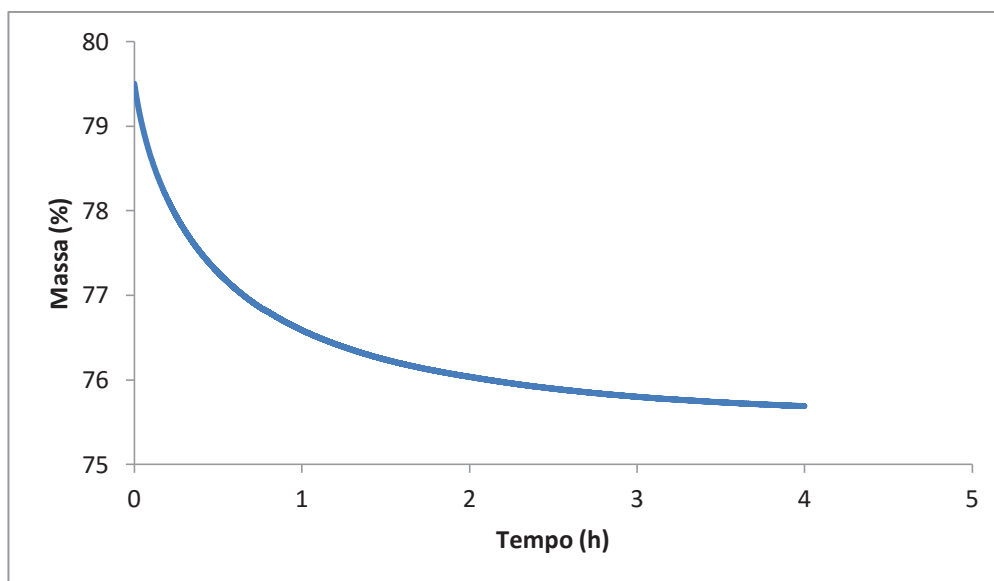
Fonte: O autor.

Por meio desta análise pode-se identificar quatro regiões principais. A primeira, até aproximadamente 100°C onde nota-se uma perda de massa de aproximadamente 5% sendo em sua maioria devido à volatilização da água, caracterizada por um vale endotérmico em 60°C na DSC e na DTA; após encontra-se uma região de transição entre 100 e 200°C, a qual não está identificada. Na segunda região de 200 a 280°C, a perda de massa de aproximadamente 6% foi devido principalmente a decomposição da MO caracterizada por um vale endotérmico em 260°C na DSC e na DTA, nesta faixa também pode ocorrer a liberação de compostos orgânicos de baixo peso molecular [55,56]. A terceira região de 270 a 370°C onde ocorre uma perda de massa de aproximadamente 4,5% deve-se principalmente à oxidação do C da MO caracterizada por um pico exotérmico largo em 340°C. A quarta região, compreendida entre 380 e 530°C, a perda de massa de aproximadamente 7% foi devido principalmente a desidroxilação de hidróxidos de Al, Fe, Mn ou outros metais.

As análises de TGA, DSC e DTA sugeriram que a decomposição térmica da MO no solo ocorreu aproximadamente entre 200 e 280°C e da oxidação do C entre 270 e 420°C, confirmando os resultados apresentado por Miyazawa et. al. em 2000[17], possibilitando estipular esta temperatura para análise gravimétrica em mufla.

Após estipular a temperatura de análise, realizou-se a análise isotérmica a 420°C, a qual resultou no gráfico da Figura 16. Através da análise visual deste gráfico pode-se verificar que após 3h de permanência a 420°C a variação da massa é mínima, podendo estipular este tempo para análise gravimétrica em mufla. Sendo assim a condição otimizada para análise de solo por gravimetria obtida neste estudo foi de 420°C durante 3h.

Figura 16 - Análise termogravimétrica isotérmica para uma amostra de solo de Guarapuava com 3,15% de Carbono Orgânico Total.

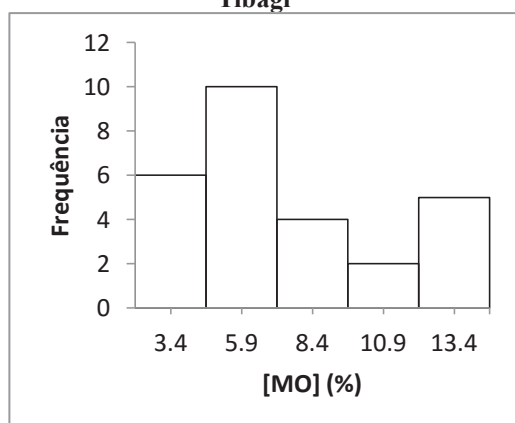


Fonte: O autor.

6.3. Método Gravimétrico em Mufla

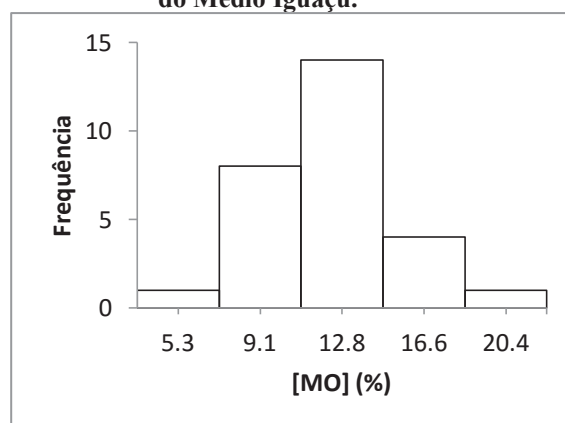
As análises pelo método gravimétrico foram realizadas com as amostras das bacias do AT e AMI em um total de 56. As análises foram desenvolvidas no laboratório de Solos do Departamento de Agronomia da UNICENTRO, em duplicata, em dias diferentes, no período de dezembro de 2015 a janeiro de 2016. O teor de MO obtido está na faixa entre 2,12 e 22,25% com teor médio de 9,70%. Os dados completos são apresentados no Anexo II. As Figuras 17, 18 e 19 apresentam os histogramas dos resultados para a bacia do AT, AMI e do total das amostras analisadas respectivamente.

Figura 17 - Histograma das análises gravimétricas em mufla da bacia do Alto Tibagi



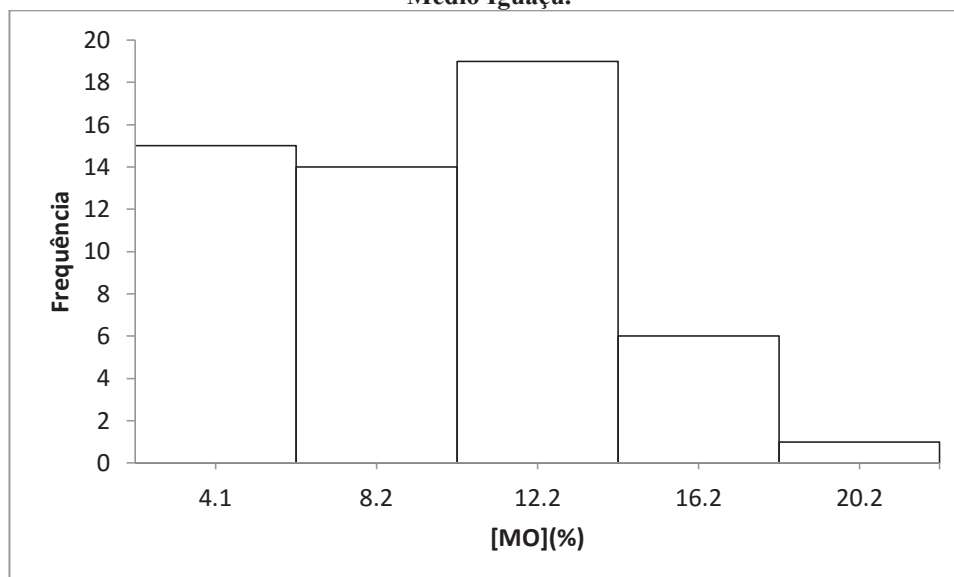
Fonte: O autor.

Figura 18 - Histograma das análises gravimétricas em mufla da bacia do Afluentes do Médio Iguaçu.



Fonte: O autor.

Figura 19 - Histograma das análises gravimétricas em mufla das bacias do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.



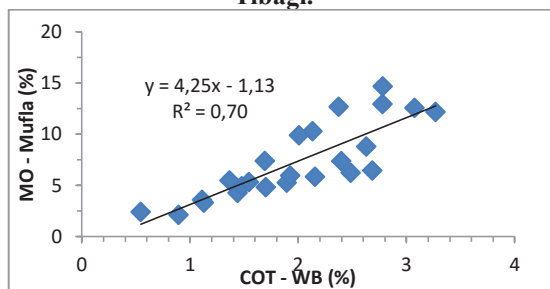
Fonte: O autor.

Por meio dos resultados de COT obtidos pelo método WB e dos teores de MO obtidos pelo método gravimétrico calculou-se o fator de Van Bemmelen, obtendo-se valores de 2,37 a 5,33 com coeficiente angular de $4,24 \pm 0,60$ e R^2 de 0,70 para o AT, e 2,51 a 5,94 com coeficiente angular de $3,42 \pm 0,48$ e R^2 de 0,68 para o AMI, sendo então o valor mínimo geral de 2,37, o valor máximo geral de 5,94, e o coeficiente angular geral de $4,37 \pm 0,36$ com R^2 de 0,76. As regressões lineares dos valores obtidos nas análises via WB e gravimétrico para os conjuntos AT, AI e ambos são mostradas nas Figuras 20, 21 e 22 respectivamente.

Estes resultados são significativamente maiores que o utilizado na maioria dos laboratórios de solos do Brasil, os quais se referenciam no estudo de Jacson 1982 para solos norte americanos (fator de 1,724 conforme citado anteriormente)[16]. Isto pode estar relacionado ao alto nível de oxidação da MO dos solos estudados. A maior presença de O na constituição das moléculas de MO, ocorrida devido a presença de grupos funcionais como ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas e ésteres aumentam a relação MO/COT.

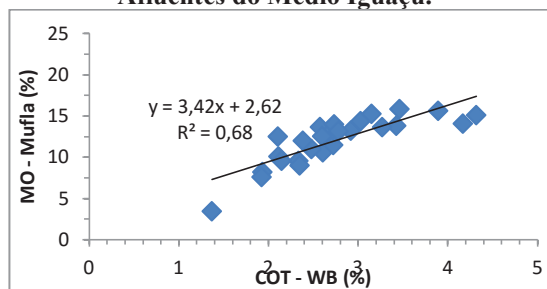
Por meio dos teores de COT obtido pelo método WB estimou-se o teor de MO, utilizando-se os fatores 1,724 utilizado pelos laboratórios e 3,72 proposto por Miyazawa et. al. (2000). Com estes valores estimados calculou-se o desvio relativo para cada um deles tendo como referência o valor obtido por gravimetria e calculou-se a média destes desvios, representada na Tabela 6 pelo DR médio. Calculou-se também o desvio relativo entre as médias gerais, representada na Tabela 6 pelo DR das Médias. Pode-se observar que a atual metodologia possui o maior desvio por subestimar o teor de MO.

Figura 20 - Regressão linear entre o teor de Carbono Orgânico Total (COT) via Walkley Black (WB) versus Matéria Orgânica (MO) via gravimetria com amostras da bacia do Alto Tibagi.



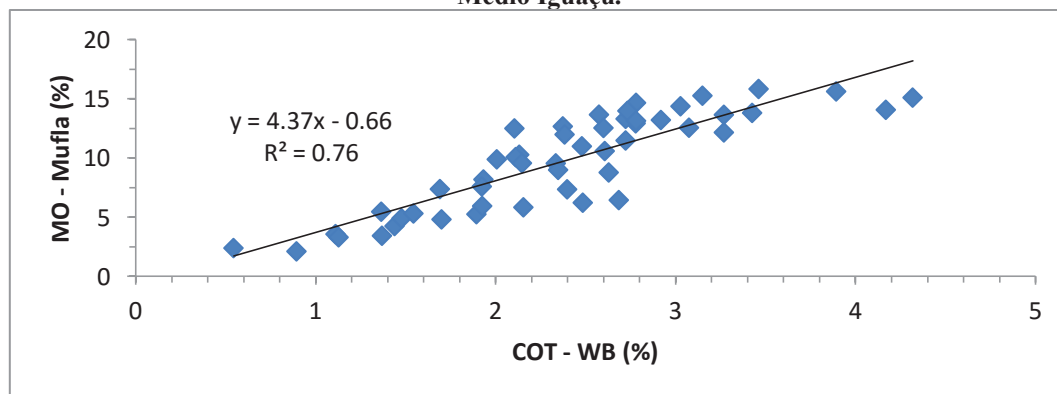
Fonte: O autor.

Figura 21 - Regressão linear entre o teor de Carbono Orgânico Total (COT) via Walkley Black (WB) versus Matéria Orgânica (MO) via gravimetria com amostras da bacia dos Afluentes do Médio Iguaçu.



Fonte: O autor.

Figura 22 - Regressão linear entre o teor de Carbono Orgânico Total (COT) via Walkley Black (WB) versus Matéria Orgânica (MO) via gravimetria com amostras das bacias do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.



Fonte: O autor.

Tabela 6 - Média e desvio relativo (DR) dos teores de Matéria Orgânica (MO) estimados pelo método Walkley Black (WB) com amostras das bacias do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.

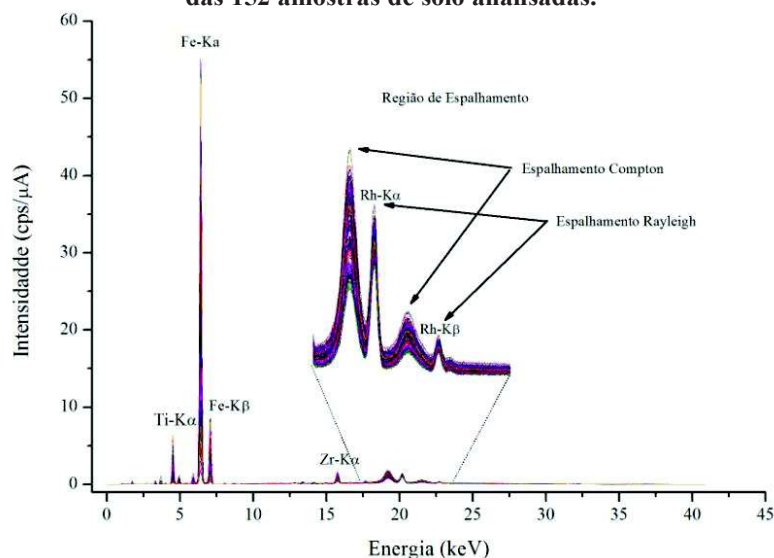
MO	Gravimétrico	WB*1,724	WB*3,72	WB*4,37
Média	9,74±4,03	4,10±1,38	8,86±2,98	9,55±3,21
DR Médio	-	55%	21%	21%
DR das Médias	-	58%	9%	2%

Fonte: O autor.

6.4. Análise de Fluorescência de Raio X por Dispersão em Energia

A Figura 23 apresenta a sobreposição dos 152 espectros de EDXRF obtido para o conjunto estudado, sendo que cada um desses espectros é composto pela média de 3 leituras. Na sobreposição dos espectros observa-se as suas semelhanças, com variações principalmente nos picos de Ti, Fe, Zr e na região do espalhamento.

Figura 23 – Espectros sobrepostos de Fluorescência de Raio X por Dispersão em Energia (EDXRF) das 152 amostras de solo analisadas.



Fonte: O autor.

6.4.1. Análise Discriminatória por PCA dos Espectros de EDXRF

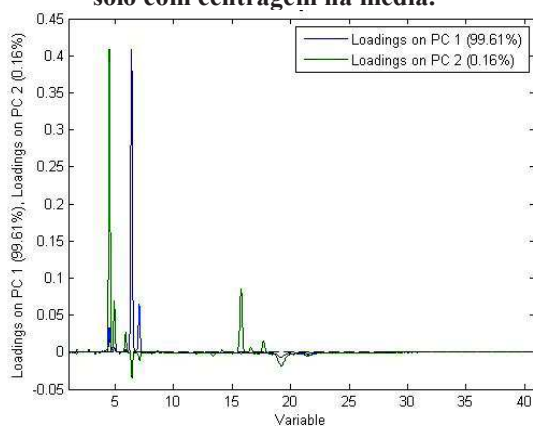
Com os dados espectrais foi desenvolvida a análise discriminatória por PCA a fim de avaliar a existência de padrões de semelhanças entre as amostras analisadas. Vários pré processamentos foram testados, dentre eles: primeira derivada, autoescalonamento, logaritmo e centragem na média, dos quais o último se destacou por obter melhor separação do conjunto amostral, sendo então utilizado na elaboração do modelo.

A Figura 24 mostra a contribuição de cada variável de entrada, ou seja cada um dos 2048 canais que compõem o espectro na construção das PC's 1 e 2. Pode-se notar que a região correspondente ao pico do Fe ($K\alpha$:6,40keV) e a região do Ti ($K\alpha$:4,51keV) contribuíram significativamente na construção da PC1 e PC2 respectivamente, isto é mais facilmente visualizado plotando-se os Loadings na PC1 versus Loadings na PC2 conforme mostra a Figura 25.

A PC1 explica 99,61% da variação contida nos espectros originais e é responsável pela maior separação das amostras. A PC2 possui pouca explicação (0,16%) e acaba não contribuindo com a separação dos grupos estudados (divididos por planaltos e bacias).

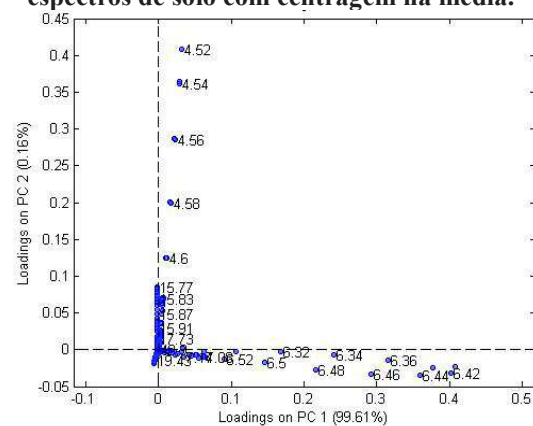
A Figura 26 apresenta o gráfico de *scores* obtidos com pré processamento centrado na média, onde as amostras estão identificadas de acordo com o planalto a que pertencem. Pode-se notar uma tendência as amostras do segundo planalto do Paraná em se agruparem em regiões de *scores* negativos na PC1 e do terceiro planalto em regiões de *scores* positivos.

Figura 24 - Loadings da Análise por Componentes Principais dos 152 espectros de solo com centragem na média.



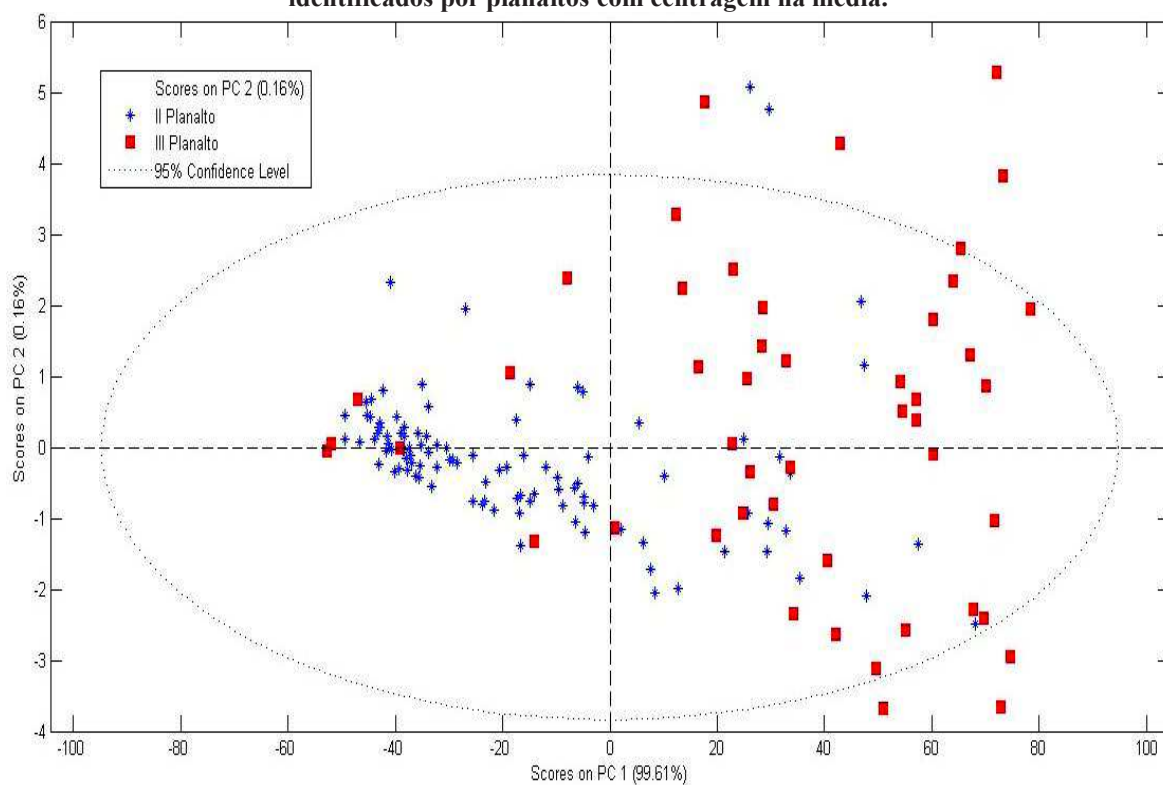
Fonte: O autor.

Figura 25 - Loadings de PC1 versus PC 2 da Análise por Componentes Principais dos 152 espectros de solo com centragem na média.



Fonte: O autor.

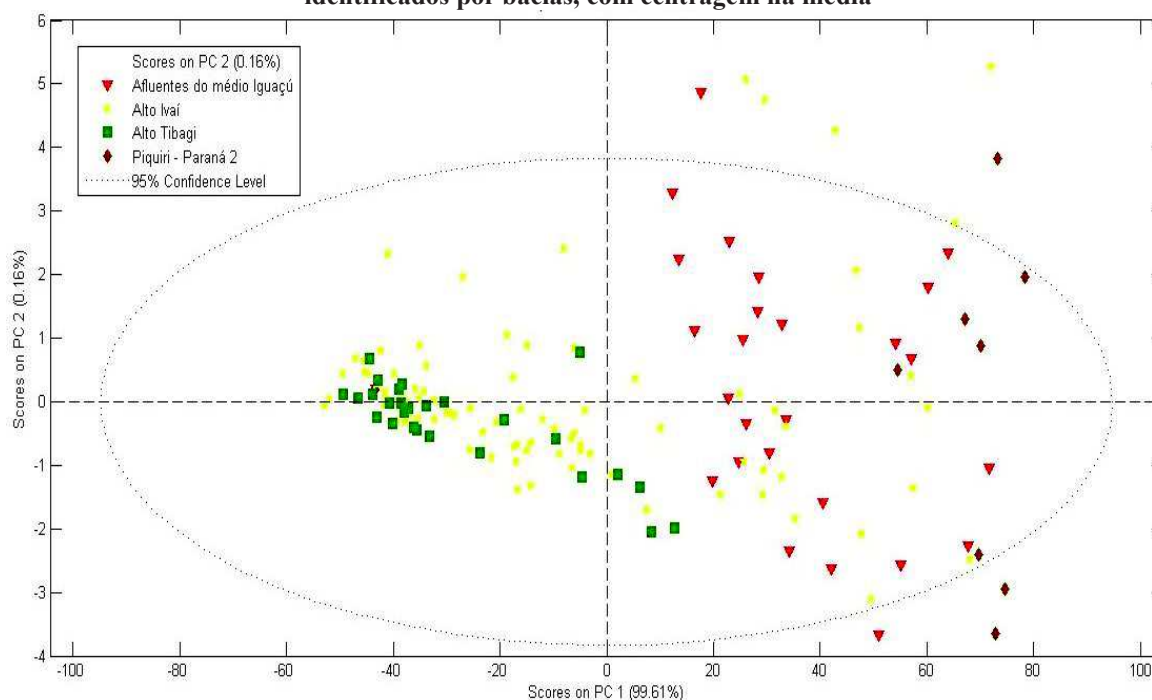
Figura 26 – Scores de PC1 versus PC2 da Análise por Componentes Principais dos espectros identificados por planaltos com centragem na média.



Fonte: O autor.

Um gráfico obtido da mesma forma que o anterior é mostrado na Figura 27 onde as amostras estão identificadas pela bacia hidrográfica a qual pertencem. Sabe-se que o segundo planalto tem formação sedimentar com granulometria e composição bastante heterogênea. Já o terceiro planalto é mais homogêneo. Sendo assim foi possível distinguir as mostras da bacia Piquiri Paraná II, Afluentes do Médio Iguaçu e Alto Tibagi, já o conjunto do Alto Ivaí, por dividir fronteira com os outros três conjuntos e ter formação heterogênea, espalhou-se no diagrama impossibilitando a sua separação de forma nítida (Ver mapa na Figura 13). Valores negativos de PC1 agrupam amostras pertencentes ao conjunto do Alto Tibagi que são bastante distintas das amostras compreendidas pelo conjunto do conjunto Piquiri Paraná II na extrema direita, conjuntos estes que não dividem fronteira e estão em planaltos diferentes. Amostras pertencentes ao Afluentes do Médio Iguaçu ficaram entre meio esses dois conjuntos formando fronteira no gráfico de scores, assim como na posição geográfica.

Figura 27 - Scores de PC1 versus PC2 da Análise por Componentes Principais dos espectros identificados por bacias, com centragem na média



Fonte: O autor.

6.4.2. PLSR com Espectros EDXRF versus Análise WB

Os resultados da PLSR estão divididos em:

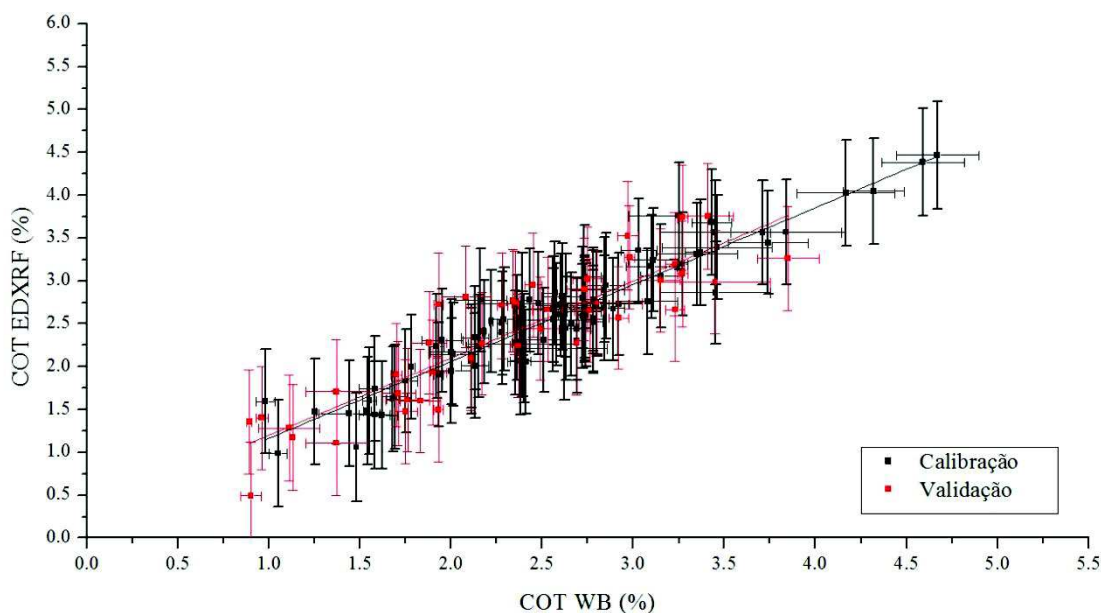
- Dois modelos elaborados com o conjunto global composto por todas as amostras, um com espectro completo e outro somente com a região de espalhamento;
- Três conjuntos elaborados com o espectro completo para as bacias AI, AMI e AT;
- Dois conjuntos elaborados com o espectro completo para os municípios com mais amostras, Ivaí e Prudentópolis.

6.4.2.1. Modelo Global com Espectro Completo.

Um modelo global foi obtido com o espectro completo, centrado na média e 10 LV. Neste modelo foram utilizadas 91 amostras para calibração e 43 para validação. Sendo que 9 amostras de calibração e 8 de validação foram excluídas por serem consideradas *outlier* com base no seu valor de T^2 -Hotelling.

Este modelo explica 99,99% da variação contida nos espectros (matriz X) e 91,13% da variação contida na concentração de COT (matriz Y) e apresenta R^2 de 0,91 para calibração e 0,72 para validação externa, RMSEC 0,22 e RMSEP 0,45. A Figura 28 mostra um gráfico dos valores obtidos com o método WB versus os valores obtidos pelo modelo.

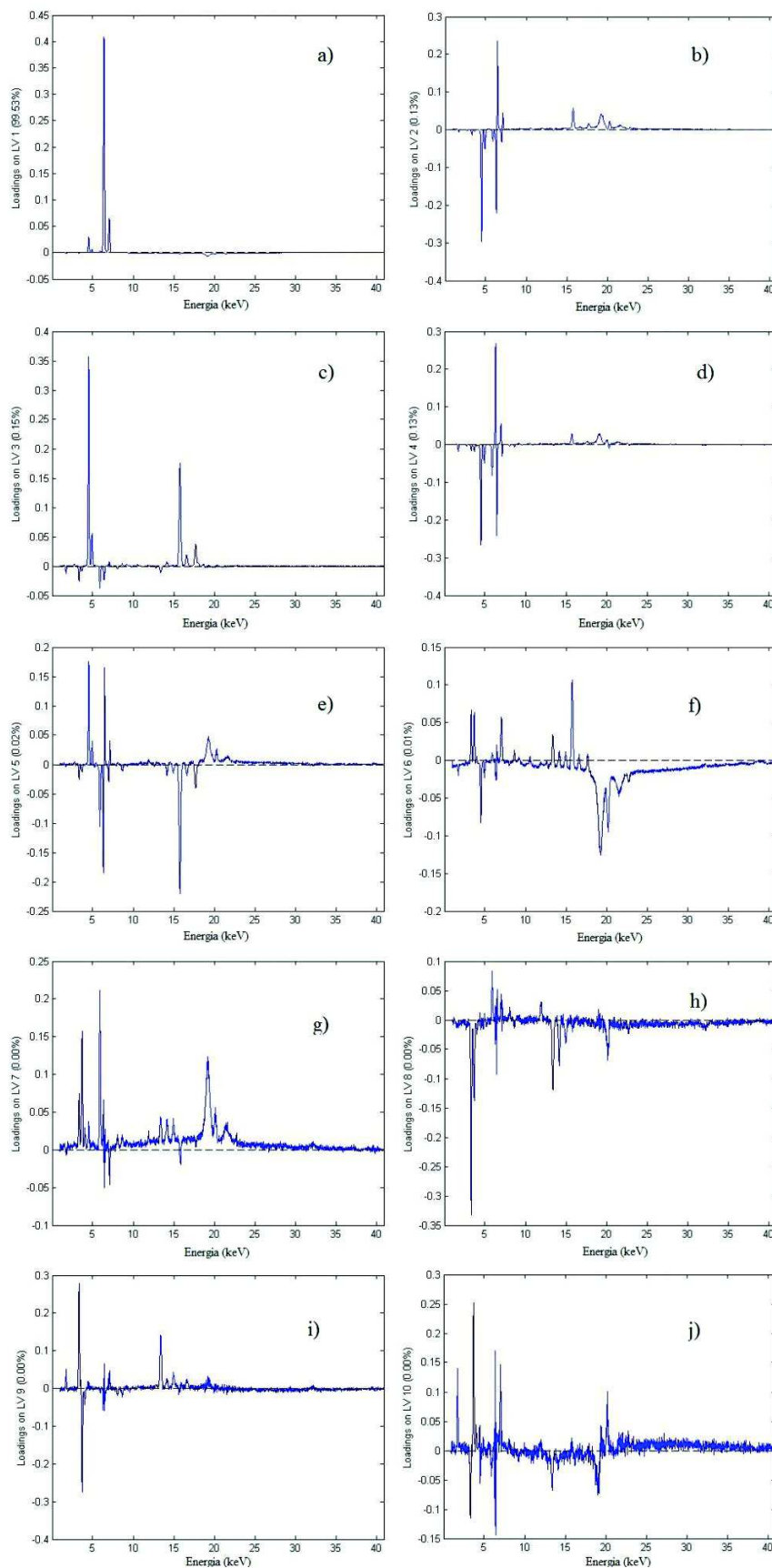
Figura 28 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) versus valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para as 152 amostras de solo.



Fonte: O autor.

A proximidade da linha ajustada (fit) em vermelho da linha 1:1 (coeficiente angular = 1,0 e coeficiente linear = 0,0) em verde indica a semelhança de exatidão entre os métodos. Pode-se observar na Figura 29 que a primeira LV está relacionada ao teor de Fe e representa 99,53% da variação contida nos espectros (ver “loadings on LV1”), já a segunda LV representa apenas 0,13% da variação e está relacionada ao teor de Ti, Fe, Zr ($K\alpha$:15,77) e a região de espalhamento (ver “loadings on LV2”), pode-se notar o aumento progressivo na presença de ruído, no entanto nota-se que até a décima LV carrega informação, sendo esta relacionada ao teor de Cálcio ($K\alpha$ =3,69keV), Fe, Si ($K\alpha$ =1,74keV) e K($K\alpha$ =3,31keV).

Figura 29 - Loadings das 10 Variáveis Latentes (LV) que compõem o modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para as 152 amostras de solo.



Fonte: O autor.

Como forma de avaliar a exatidão do método, o teste t -pareado foi aplicado às amostras de validação. O valor de t calculado foi de 0,18, o qual é menor que o tabelado $t_{(47;0,025)}=2,01$, indicando que os métodos possuem exatidão semelhante a um nível de significância de 95%.

O desvio relativo médio encontrado para as amostras de validação foi de 16% quando comparado ao método WB, valor este semelhante ao valor de 17% encontrado para o método WB quando comparado à análise elementar apresentado anteriormente (ver Tabela 1)[1].

Em estudo citado anteriormente, Kaniu et al., 2012 utilizaram 21 LV, obtendo um desvio relativo médio de 42%[50]. O uso excessivo de LV aumenta a correlação, mas não melhora os resultados, pois, são as primeiras variáveis que carregam mais informação, as demais acabam por modelar o ruído, tornando o método menos robusto e muito específico ao conjunto estudado.

A precisão foi avaliada através do teste de variâncias F, sendo que para este modelo foi obtido o valor de 1,13, o qual é menor que o tabelado ($F_{(42,42)}=1,41$), indicando não haver diferença de precisão entre os métodos.

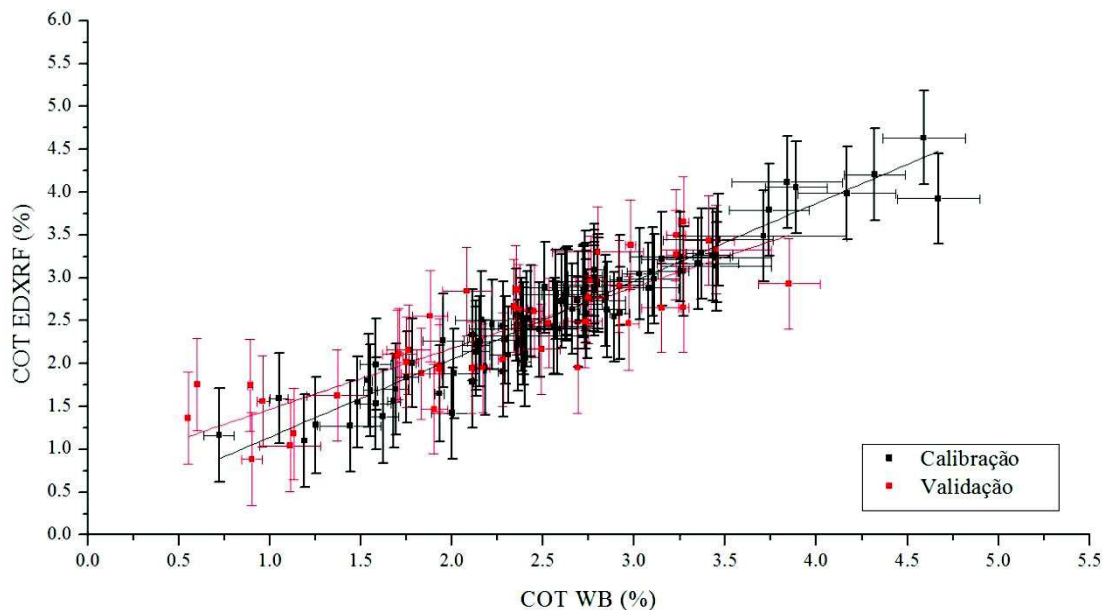
6.4.2.2. Modelo Global utilizando a Região do Espalhamento.

Restringindo os dados espectrais a região de espalhamento, a qualidade da regressão foi mantida. Isso demonstra que a informação referente ao teor de COT está relacionada à região do espalhamento. Neste modelo foram utilizadas 91 amostras para calibração e 42 para validação. Sendo que 9 amostras de calibração e 9 de validação foram excluídas por serem consideradas *outlier* com base em seu valor de T^2 Hotelling.

Este modelo foi elaborado com 5 LV, explicando 99,32% da variação contida nos espectros (matriz X), 90,02% da variação contida na concentração de COT (matriz Y), apresentando R^2 de 0,90 para calibração e 0,80 para validação, RMSEC 0,23 e RMSEP 0,36.

A Figura 30 mostra o gráfico dos valores medidos pelo método WB *versus* os valores preditos pelo modelo.

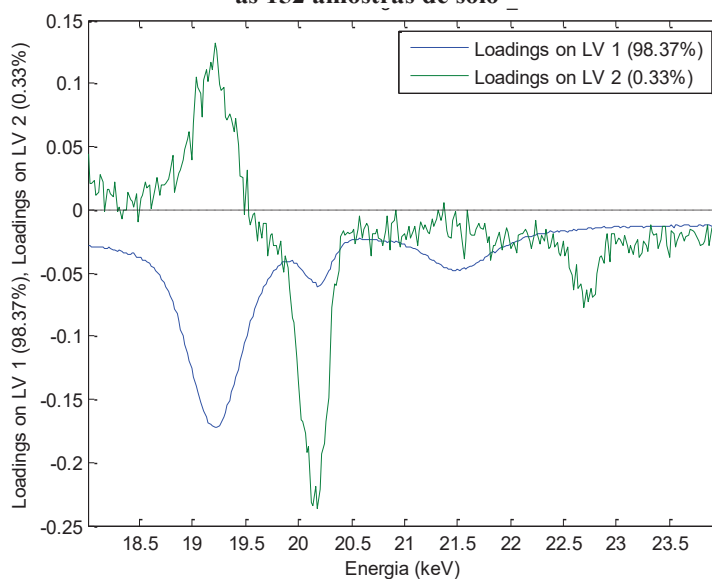
Figura 30 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) versus valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com a região de espalhamento de fluorescência de raio X para as 152 amostras de solo



Fonte: O autor.

O ajuste linear próximo ao ideal (1:1) indica que os métodos possuem exatidão semelhante. Pode-se observar na Figura 31 que a primeira LV está relacionada com toda a região do espalhamento e representa 98,37% da variação (ver “loadings on LV1”), já a segunda LV representa apenas 0,33% e esta relacionada a região de espalhamento Rayleigh e Compton da transição $K\alpha$ do Rh (ver “loadings on LV2”).

Figura 31 - Loadings das 2 primeiras Variáveis Latentes (LV) que compõem o modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com a região de espalhamento de fluorescência de raio X para as 152 amostras de solo



Fonte: O autor.

O valor de t calculado a partir das amostras de validação foi de 0,33, o qual é menor que o tabelado $t_{(45;0,025)}=2,02$, indicando que os métodos possuem exatidão semelhante para um nível de significância de 95%.

O desvio relativo médio encontrado para as amostras de validação foi de 20% quando comparado ao método WB.

A precisão deste modelo, avaliada pelo teste de variâncias F, é semelhante ao método WB indicando um valor de 1,02, o qual é menor que o tabelado ($F_{(42,42)}=1,41$).

Comparando o modelo de espectro completo com o modelo utilizando a região do espalhamento percebe-se que ambos apresentam valores de previsão equivalentes. O modelo com região do espalhamento foi obtido com 5 LV, metade do valor para o espectro completo.

6.4.2.3. Modelo para as Bacias Hidrográficas com espectro completo.

Três modelos foram obtidos para as bacias hidrográficas do AI, AT e AMI utilizando o espectro completo centrado na média. Os parâmetros calculados são apresentados na Tabela 7. Devido a variação entre amostras ser menor no grupo de cada bacia hidrográfica, quando comparada ao conjunto global, nota-se a conservação da qualidade da regressão, mesmo ao se reduzir o numero de LV e o número de amostras utilizadas na elaboração do modelo. No entanto estes modelos se tornam mais específicos e só podem ser aplicados a sua região.

Tabela 7 - Resumo dos resultados para bacias hidrográficas do Alto Ivaí (AI), Alto Tibagi (AT) e Afluentes do Médio Iguaçu (AMI).

	AI	AT	AMI
Numero de LV's	10	6	7
Amostras Calibração	58	19	20
Amostras Validação	23	6	7
Explicação do Bloco X (%)	99,99	99,88	99,98
Explicação do Bloco Y (%)	95,50	94,39	96,99
R² Calibração	0,96	0,94	0,97
R² Validação	0,53	0,75	0,90
RMSEC	0,16	0,18	0,15
RMSEP	0,61	0,41	0,33
t-pareado Calculado	1,38	0,99	1,35
t Tabelado	2,07	2,57	2,45
F calculado	1,30	2,56	3,50
F tabelado	2,05	3,79	4,28
Desvio relativo das amostras de Validação (%)	22	19	13

Fonte: O autor.

Os valores obtidos para o teste *t*-pareado e F são menores que os tabelados em todos os modelos, indicando que os métodos possuem exatidão e precisão semelhante a um nível de significância de 95%.

O desvio relativo médio encontrado para as amostras de validação, quando comparados com o método WB, são aceitáveis, considerando se tratar de uma análise rápida, não poluente e não destrutiva.

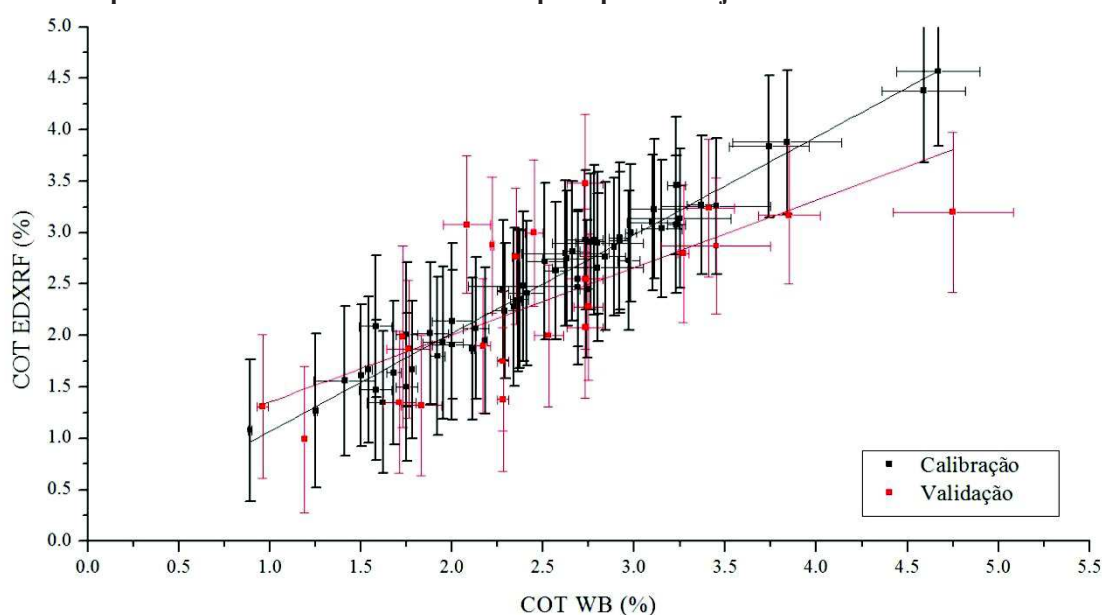
Assim como nos modelos anteriores, a primeira LV está fortemente relacionada ao teor de Fe e com alto grau de explicação (>98%). No entanto nota-se diferença na segunda LV. Sendo que está mais relacionada ao teor de Ti e menos à região de espalhamento para o conjunto do AMI, comparada a ambos no conjunto do AI e o oposto, menos relacionado ao teor de titânio e mais relacionado à região de espalhamento para o conjunto do AT.

Os valores medidos pelo método WB *versus* os valores preditos pelo método EDXRF para cada modelo são apresentados nas Figuras 32, 33 e 34.

A redução do conjunto amostral aumentou a proximidade entre as linhas ajustadas e as linhas 1:1 indicando um aumento na semelhança de exatidão entre os métodos.

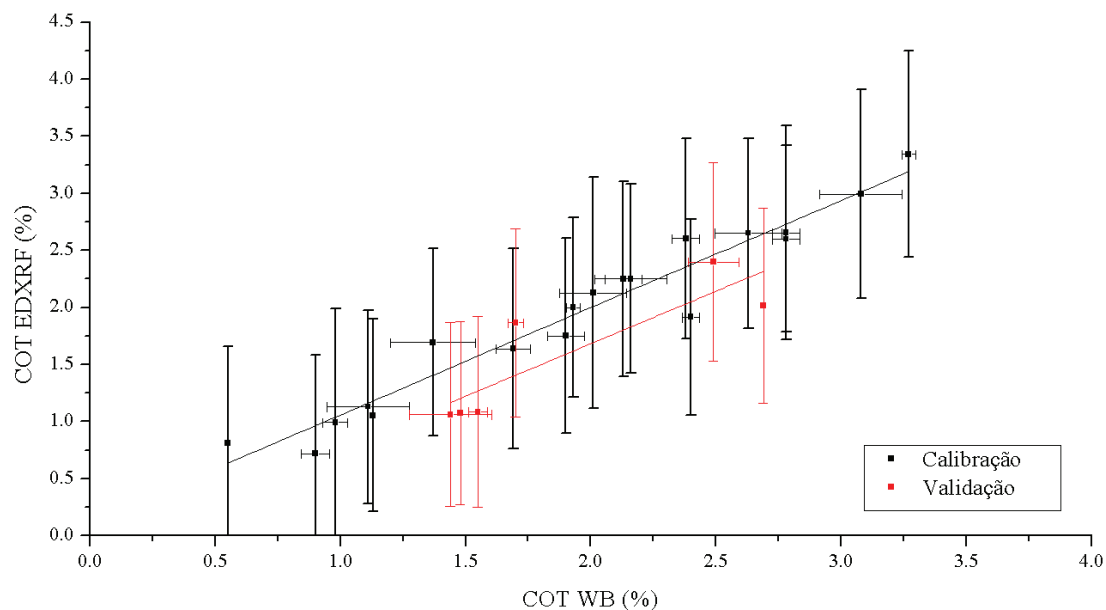
Os valores de COT obtidos pelos métodos WB e EDXRF para estes conjuntos de dados são apresentados na Tabela 8 com seus respectivos desvios relativos, média e desvio padrão. As médias encontradas são semelhantes, considerando-se o respectivo desvio padrão.

Figura 32 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) *versus* valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto da bacia do Alto Ivaí.



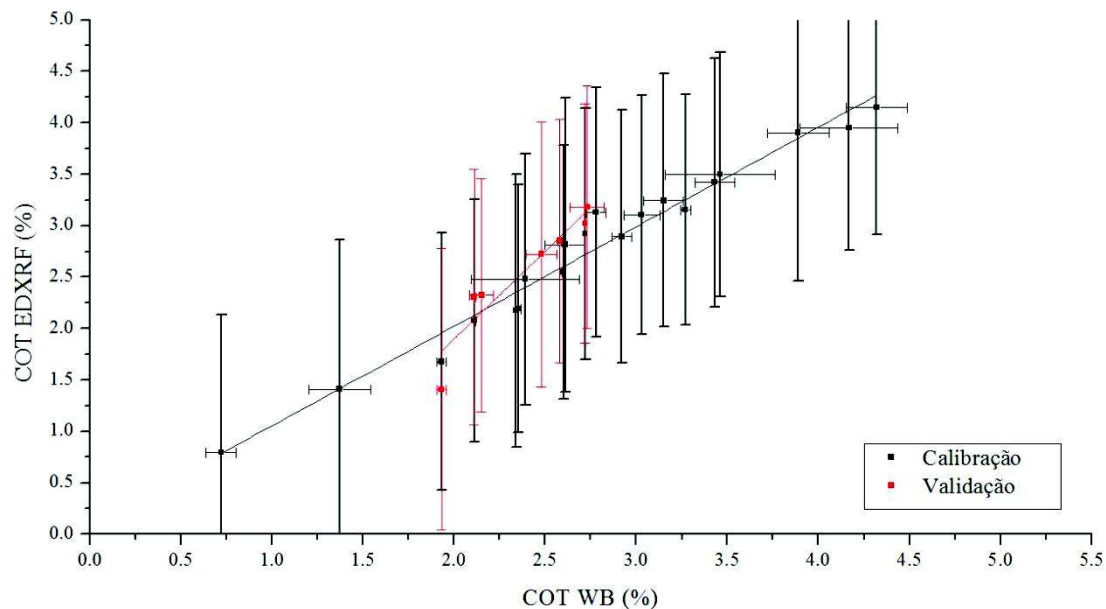
Fonte: O autor.

Figura 33 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) versus valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto da bacia do Alto Tibagi.



Fonte: O autor.

Figura 34 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) versus valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto da bacia dos Afluentes do Médio Iguazú.



Fonte: O autor.

Tabela 8 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) obtidos pelos métodos Walkley Black (WB) e fluorescência de raio X por dispersão em energia (EDXRF) para as amostras de validação do Alto Ivaí (AI), Alto Tibagi (AT) e Afluentes do Médio Iguaçu (AMI) e respectivos Desvio Relativos (DR).

AI			AT			AMI		
WB	EDXRF	DR	WB	EDXRF	DR	WB	EDXRF	DR
2,45	3,00	22%	2,35	2,77	18%	1,44	1,11	23%
2,73	2,55	7%	3,27	2,80	14%	1,48	1,14	23%
2,28	1,38	40%	3,41	3,24	5%	1,55	1,12	28%
2,73	2,08	24%	3,45	2,87	17%	1,7	1,79	5%
2,53	2,00	21%	2,73	3,48	27%	2,49	2,37	5%
2,75	2,28	17%	3,85	3,17	18%	2,69	1,93	28%
1,71	1,35	21%	2,22	2,88	30%	-	-	-
2,08	3,08	48%	1,19	0,99	17%	-	-	-
2,17	1,90	12%	2,28	1,75	23%	-	-	-
0,96	1,31	36%	4,75	3,20	33%	-	-	-
1,83	1,32	28%	1,76	1,87	6%	-	-	-
	Continua =>		1,73	1,99	15%	-	-	-
	Média		2,49	2,31	22%	1,89	1,58	19%
	Desvio Padrão		0,86	0,75		0,55	0,53	
						0,32	0,60	

Fonte: O autor.

6.4.2.4. Modelo para os Municípios Utilizando Espectro Completo.

Foi obtido um modelo de PLSR para cada um dos municípios de Ivaí e Prudentópolis utilizando o espectro completo centrado na média. Estas duas cidades foram escolhidas por serem as que possuíam os maiores números de amostras. Os parâmetros calculados são apresentados na Tabela 9. Estes modelos são mais específicos ainda do que os elaborados para as bacias hidrográficas, pois uma bacia abrange diversos municípios. Portanto, só podem ser aplicados aos respectivos municípios de origem.

Aplicou-se o teste *t*-pareado às amostras de validação, ambos os modelos apresentaram valores menores que o tabelado, indicando que os métodos possuem exatidão semelhante a um nível de significância de 95%.

O desvio relativo médio encontrado para as amostras de validação de cada conjunto foram de 22 e 24% quando comparados ao método WB para Ivaí e Prudentópolis respectivamente. Para o município de Prudentópolis, obteve-se um desvio mais acentuado e foram necessárias 9 LV's para elaboração do modelo. Este fato pode estar relacionado a ampla variação na constituição do solo deste município que é de origem sedimentar.

Tabela 9 - Resumo dos resultados para os modelos dos municípios de Ivaí e Prudentópolis.

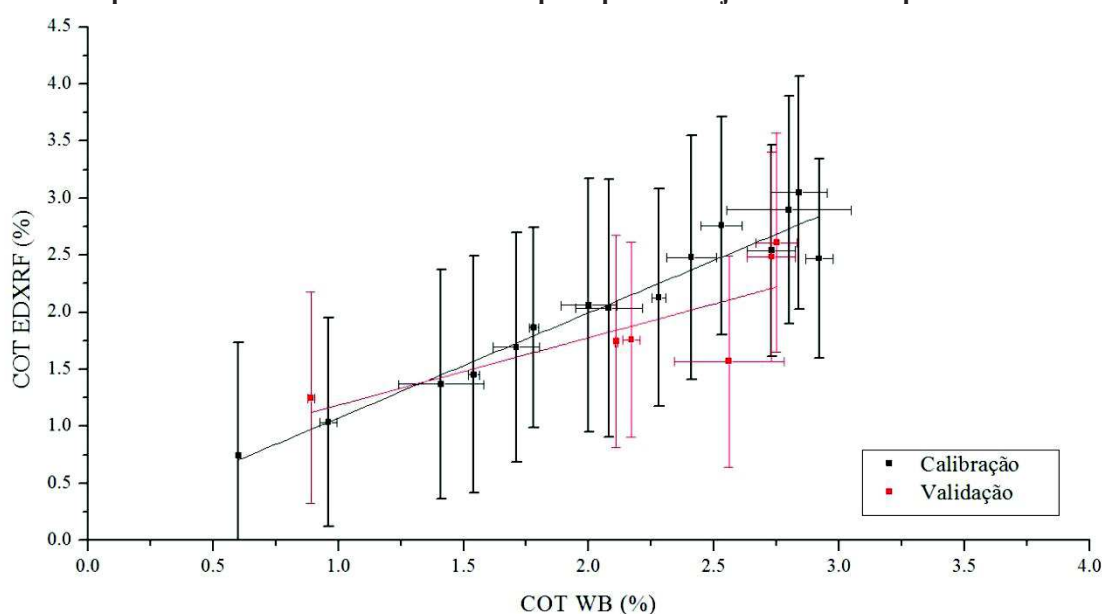
	Ivaí	Prudentópolis
Numero de LV's	6	9
Amostras Calibração	15	41
Amostras Validação	6	10
Explicação do Bloco X (%)	99,98	99,99
Explicação do Bloco Y (%)	93,99	92,47
R ² Calibração	0,94	0,92
R ² Validação	0,61	0,49
RMSEC	0,17	0,21
RMSEP	0,5	0,61
t-pareado Calculado	1,67	0,34
t-Tabelado	2,23	2,1
F calculado	1,71	1,36
F tabelado	5,05	3,18
Desvio relativo das amostras de Validação (%)	22	24

Fonte: O autor.

Não foram observadas diferenças relevantes, com relação ao conjunto global, na formação dos *loadings* para os municípios, sendo a primeira LV relacionada fortemente ao pico de Fe e com alta explicação, e a segunda relacionada ao pico de Ti e a região de espalhamento.

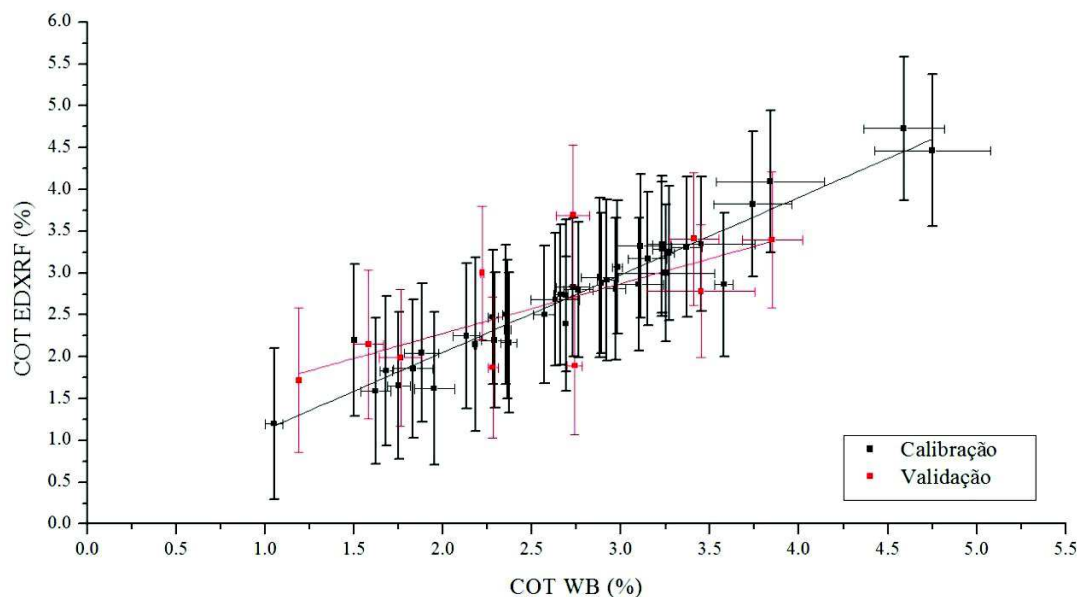
Os valores medidos pelo método WB *versus* os valores preditos para cada modelo são mostrados nas Figuras 35 e 36, onde observa-se uma boa correlação linear dos dados.

Figura 35 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) *versus* valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto do município de Ivaí.



Fonte: O autor.

Figura 36 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) medidos com o método Walkley Black (WB) versus valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto do município de Prudentópolis.



Fonte: O autor.

Como pode-se observar os três conjuntos indicam haver semelhança na exatidão e precisão entre os modelos elaborados e o método WB, representada pela proximidade do ajuste linear à linha 1:1 e o valor obtido para o teste F respectivamente.

Os valores de COT obtidos pelos métodos WB e EDXRF para estes conjuntos de dados são apresentados na Tabela 10 com seus respectivos desvios relativos, média e desvio padrão. As médias encontradas são semelhantes, considerando-se o respectivo desvio padrão.

Tabela 10 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) obtidos pelos métodos Walkley Black (WB) e fluorescência de raio X por dispersão em energia (EDXRF) para as amostras de validação dos municípios de Ivaí e Prudentópolis e respectivos Desvio Relativos (DR)

	Ivaí			Prudentópolis		
	WB	EDXRF	DR	WB	EDXRF	DR
	2,73	2,49	9%	3,41	3,41	0%
	2,75	2,61	5%	3,45	2,78	19%
	2,56	1,57	39%	2,73	3,69	35%
	2,17	1,76	19%	3,85	3,40	12%
	0,89	1,25	41%	2,22	3,00	35%
	2,11	1,74	17%	2,74	1,89	31%
	-	-	-	1,19	1,72	44%
	-	-	-	2,28	1,87	18%
	-	-	-	1,58	2,15	36%
	-	-	-	1,76	1,99	13%
Média	2,20	1,90	22%	2,52	2,59	24%
Desvio Padrão	0,86	0,75		0,55	0,53	

Fonte: O autor.

6.4.3. PLSR com dados de EDXRF *versus* gravimetria em mufla

Foram elaborados dois modelos, um com o espectro inteiro e outro restrito à região de espalhamento para os dados espectrais de EDXRF com os valores de MO obtidos via gravimetria em mufla para as amostras provenientes das bacias hidrográficas do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.

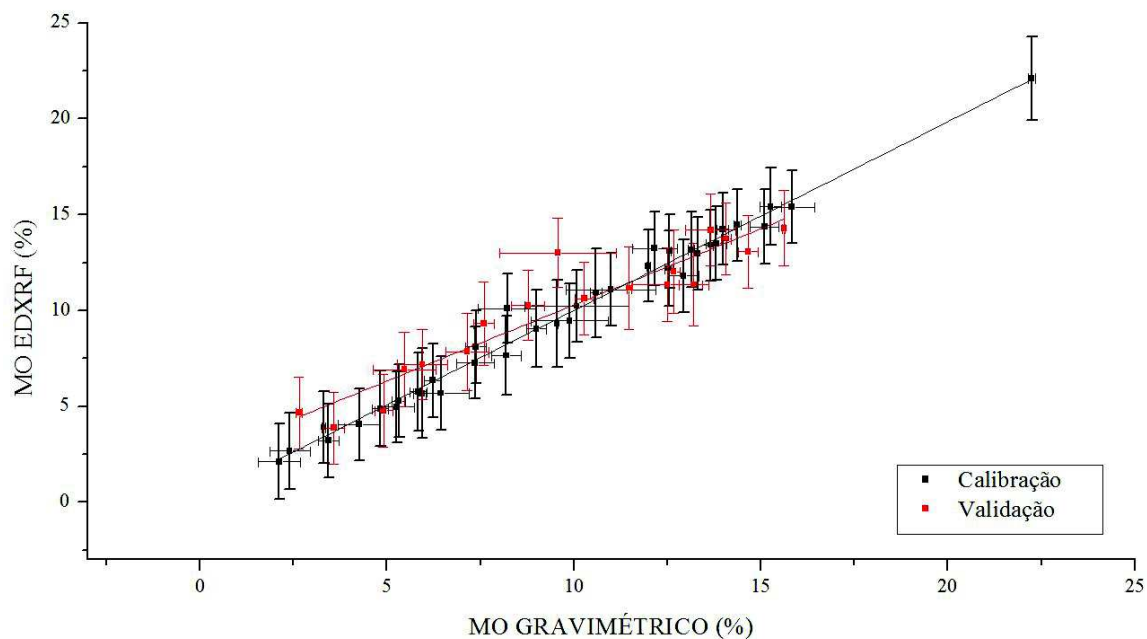
6.4.3.1. Modelo com espectro completo.

O modelo de espectro completo, foi elaborado com centragem na média e 9 LV. Neste modelo foram utilizadas 37 amostras para calibração e 18 para validação. Estes conjuntos amostrais foram escolhidos aleatoriamente.

Este modelo explica 99,99% da variação contida nos espectros (matriz X) e 98,64% da variação contida na concentração de MO (matriz Y) e apresenta R^2 de 0,99 para calibração e 0,89 para validação, RMSEC 0,52 e RMSEP 1,40. A Figura 37 mostra o gráfico com os valores de MO medidos via gravimetria em mufla *versus* os valores previstos pelo modelo.

O desvio relativo médio encontrado foi de 16%, resultado este idêntico ao obtido com o método EDXRF para COT via WB.

Figura 37 - Valores de Matéria Orgânica (MO) medidos com o método Gravimétrico *versus* valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com o espectro de fluorescência de raio X completo para o conjunto da bacia do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.



Fonte: O autor.

Apesar dos modelos elaborados com dados WB apresentarem bons resultados, é visível a melhora nos resultados ao se trabalhar com os dados de MO obtidos via gravimetria em mufla, mostrados no ajuste quase perfeito desta reta de regressão.

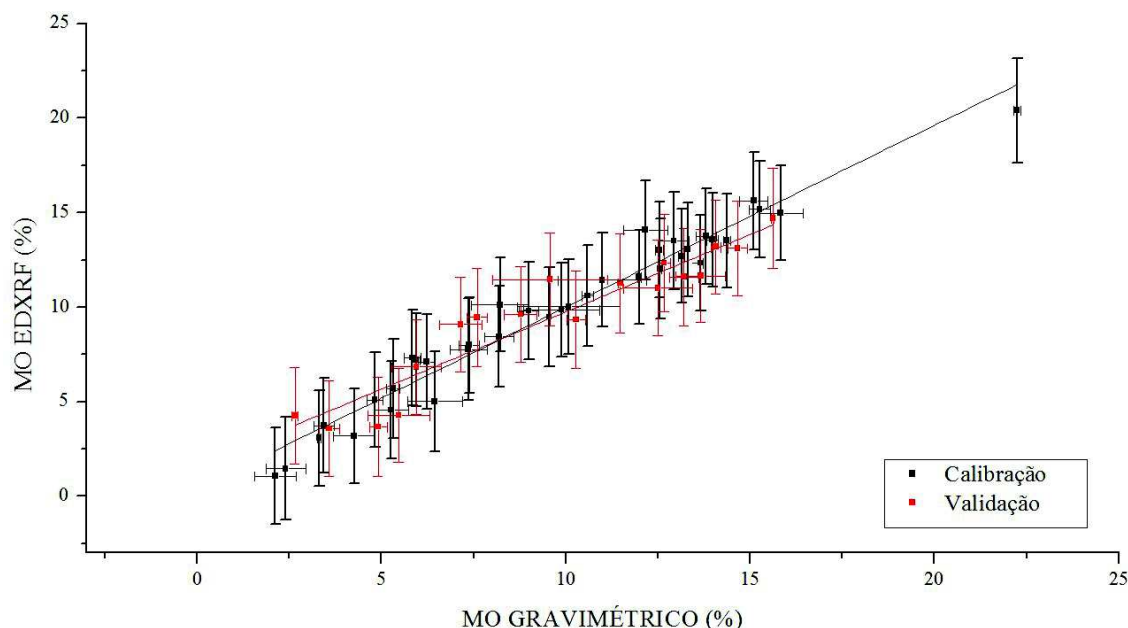
Não foram observadas diferenças relevantes na formação dos *loadings* com relação a regressão feita com os dados de COT via WB. Sendo a primeira LV relacionada fortemente ao pico de Fe e com alta explicação (99,50%), e a segunda, com pouca explicação (0,18%) e relacionada ao pico de Ti e a região de espalhamento.

O teste *t*-pareado e o teste F com as amostras de validação indicaram não haver diferença significativa de exatidão e precisão entre os valores analisados pelo método gravimétrico em mufla e EDXRF a um nível de significância de 95%. Sendo os valores calculados de $t=0,99$ e $F=1,45$ sendo ambos menores que os tabelados $t_{(17,0,025)}=2,11$ e $F_{(17,17)}=2,26$.

6.4.3.2. Modelo com a Região de Espalhamento.

Este modelo, obtido com a região do espalhamento, foi elaborado com centragem na média e 4 LV. Neste modelo foram utilizadas as mesmas 37 amostras para calibração e 18 para validação. Este modelo explica 99,42% da variação contida nos espectros (matriz X) e 96,28% da variação contida na concentração de MO (matriz Y) e apresenta R^2 de 0,96 para calibração e 0,90 para validação, RMSEC 0,87 e RMSEP 1,33. A Figura 38 mostra o gráfico dos valores de MO medidos via gravimetria em mufla *versus* os valores previstos pelo modelo.

Figura 38 - Valores de Matéria Orgânica (MO) medidos com o método Gravimétrico *versus* valores preditos pelo modelo de regressão por mínimos quadrados parciais obtido com a região de espalhamento de fluorescência de raio X para o conjunto da bacia do Alto Tibagi e Afluentes do Médio Iguaçu.



Fonte: O autor.

Pode-se observar que novamente a qualidade do modelo é mantida ao restringir os dados à região de espalhamento, sendo que este modelo também apresentou proximidade entre as linhas ajustadas e as linhas 1:1 e conseqüente semelhança de exatidão. Houve uma redução no desvio relativo médio das amostras independentes para 15%.

Com relação à composição das LV, são praticamente idênticas ao conjunto global com a região de espalhamento, sendo que a primeira LV está relacionada com toda a região do espalhamento e representa 98,50% da variação contida nos espectros e a segunda LV representa apenas 0,45% da variação e esta relacionada a região de espalhamento Rayleigh e Compton da transição $K\alpha$ do Rh.

O teste t -pareado com as amostras de validação indicou não haver diferença significativa entre os valores analisados pelo método gravimétrico em mufla e EDXRF a um nível de significância de 95%. Sendo o valor calculado de 0,57 menor que o tabelado $t_{(17,0,025)}=2,11$ comprovando que os métodos possuem exatidão semelhante.

O teste F indicou que o modelo obtido não possui diferença de precisão com o método gravimétrico, sendo o valor obtido 1,33 menor que o tabelado 2,26.

Os melhores resultados obtidos correlacionando o espectro EDXRF com a MO ao invés do COT é atribuído ao fato de que as informações contidas no espectro EDXRF, principalmente a região de espalhamento, estão relacionadas a presença de todos os

elementos leves e não apenas ao C e, conforme diversos estudos relatam, a relação entre MO e COT não é constante.

Novamente comparando os modelos com espectro completo e com a região do espalhamento, ambos apresentam resultados equivalentes com a vantagem do uso de um número menor de LV para a região do espalhamento.

6.5. Comparação entre os métodos gravimétrico, WB e EDXRF.

Neste item está o comparativo entre os três métodos aqui estudados, WB, Gravimétrico e EDXRF. Para representar a metodologia proposta foi eleito o modelo que apresentou melhor resultado, o obtido com PLSR com espectro completo e os dados gravimétricos. Optou-se transformar o COT obtido pelo método WB em MO através do fator 4,37, obtido neste estudo para possibilitar a comparação.

A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos para as 18 amostras independentes, utilizadas na validação do método EDXRF.

Observa-se que os resultados apresentaram desvio relativo médio de 22 e 12% para os métodos WB e EDXRF respectivamente, quando comparados com o método gravimétrico. O desvio relativo médio do método EDXRF é menor que o WB quando comparados com o gravimétrico em mufla, comprovando a aplicabilidade do método.

Tabela 11 - Comparativo de resultados de Matéria Orgânica (MO) obtidos pelo método Gravimétrico, Walkley Black (WB) e por fluorescência de raio X por dispersão em energia (EDXRF).

	MO (%) Gravimétrico	MO (%) (WB*4,37)	DR WB/ Gravimétrico	MO (%) EDXRF	DR EDXRF/ Gravimétrico
	3,58	4,86	36%	3,87	8%
	4,91	6,46	32%	4,78	3%
	5,47	5,97	9%	6,92	27%
	5,95	8,42	42%	7,18	21%
	7,15	2,05	71%	7,85	10%
	7,60	8,41	11%	9,32	23%
	8,78	11,49	31%	10,26	17%
	9,57	9,39	2%	13,02	36%
	10,28	9,32	9%	10,62	3%
	11,48	11,90	4%	11,16	3%
	12,50	9,20	26%	11,35	9%
	12,67	10,38	18%	12,03	5%
	13,21	12,76	3%	11,36	14%
	13,66	11,26	18%	14,20	4%
	14,07	18,22	29%	13,74	2%
	14,66	12,16	17%	13,08	11%
	15,62	17,02	9%	14,29	9%
Média	10,07±3,78	9,96±4,04	22%	10,30±3,20	12%

Fonte: O autor.

6.6. Custo das análises

Os dados utilizados na elaboração da estimativa de custo das análises de: COT pelo método WB, MO pelo método gravimétrico e COT ou MO pelo método EDXRF foram organizados na Tabela 12.

Tabela 12 – Composição dos custos das análises de Carbono Orgânico Total ou Matéria Orgânica pelos Métodos Walkley Black, gravimétrico e por fluorescência de raio X por dispersão em energia.

Metodologia	WB	Gravimétrico	EDXRF	EDXRF	EDXRF
Número de amostras por ano	Indiferente	Indiferente	10.000	20.000	50.000
Ácido Sulfúrico	R\$ 0,18	-	-	-	-
Ácido Orto-Fosfórico	R\$ 0,07	-	-	-	-
Dicromato de Potássio	R\$ 0,03	-	-	-	-
Difenilamina	R\$ 0,01	-	-	-	-
Mão de obra com encargos	R\$ 0,57	R\$0,57	R\$ 0,25	R\$ 0,25	R\$0,25
Depreciação equipamentos	R\$ 0,20	R\$0,10	R\$ 1,20	R\$ 0,60	R\$0,24
Descarte resíduos	R\$ 0,54	-	-	-	-
Energia elétrica	-	R\$1,49	R\$ 0,09	R\$ 0,07	R\$0,03
Manutenção anual	-	-	R\$ 0,40	R\$ 0,20	R\$0,08
Nitrogênio líquido	-	-	R\$ 0,07	R\$ 0,05	R\$0,03
Mylar®	-	-	R\$ 0,60	R\$ 0,60	R\$0,60
Total	R\$ 1,59	R\$2,16	R\$ 2,61	R\$ 1,77	R\$1,23

Fonte: O autor.

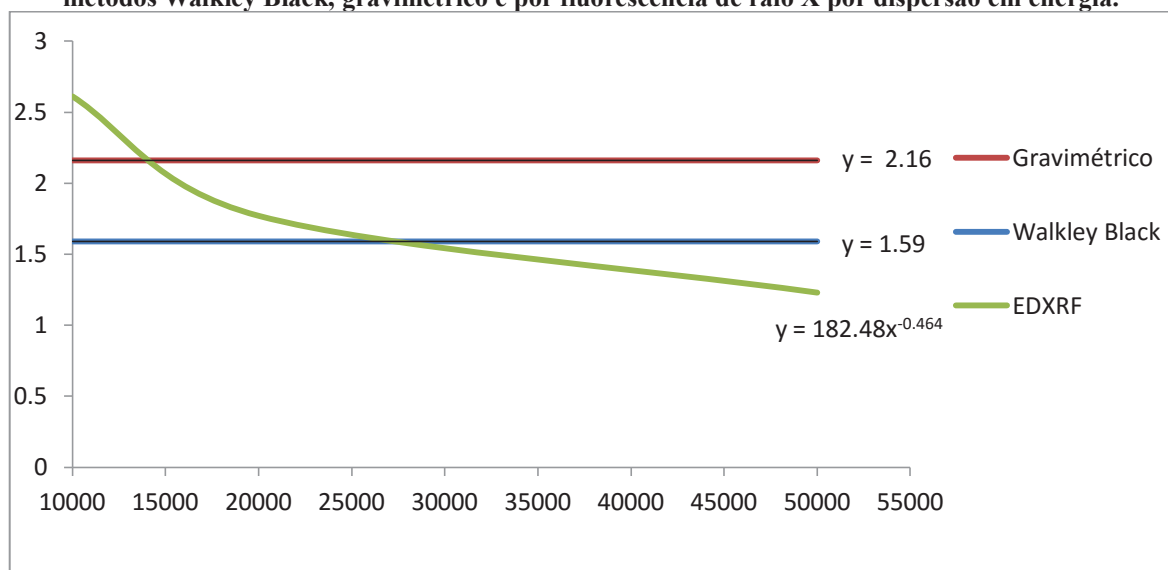
O método WB possui o menor custo inicial por análise, R\$1,59, o qual não oscila com o aumento no volume de amostras, pois as componentes do custo são diretamente correlacionados ao volume de amostra (gasto de reagentes, quantidade de vidraria, tempo de mão de obra, resíduos gerados), sendo os custos com mão de obra e descarte dos resíduos os mais elevados representando 35 e 33% respectivamente.

A análise pelo método Gravimétrico possui uma estimativa de custo de R\$2,16, sendo os custos com energia elétrica e mão de obra os mais relevantes, representando 69 e 26% do custo total respectivamente.

O método EDXRF possui um custo dependente do volume de amostras, sendo de R\$2,61 por análise para um laboratório que realize 10 mil amostras no ano. A principal componente que contribui para este custo elevado é à depreciação do equipamento de análise por EDXRF, o qual vale cerca de US\$63.000,00 (a uma cotação de R\$3,60/US\$ seriam R\$226.800,00). No entanto, com o aumento no número de análises, esse custo se dilui. Um laboratório que realiza em torno de 28 mil análises por ano possui uma

estimativa de custos igual ao método WB, e com apenas 14 mil amostras ao ano o custo fica igual ao método gravimétrico, conforme mostra a Figura 39. Já um laboratório que realiza 50 mil análises no ano possui uma estimativa de custo de R\$1,23, sendo este valor 23% mais barato do que o método WB. Tendo em vista a ampla aplicação do equipamento de EDXRF e sua possibilidade de utilização na determinação de demais parâmetros, inclusive de fertilidade de solo, os custos da análise podem reduzir consideravelmente viabilizando a aplicação em laboratórios com volumes menores de amostra.

Figura 39- Gráfico do custo de uma análise de Carbono Orgânico Total e Matéria Orgânica pelos métodos Walkley Black, gravimétrico e por fluorescência de raio X por dispersão em energia.



6.7. Considerações Finais

O desempenho dos modelos elaborados foi muito bom e os resultados bastante satisfatórios para medidas tanto de COT como MO, empregando um equipamento de fácil manuseio, baixo risco, uma técnica com poucas etapas de preparação e num curto tempo de medida (100s).

Ficou comprovado por meio da regressão linear, do teste *t*-pareado, dos baixos valores de RMSEC e RMSEP e do teste F, aplicado às amostras independentes, que os valores obtidos pelo método EDXRF possuem exatidão e precisão semelhante ao método WB e gravimétrico em mufla na determinação de COT e MO respectivamente.

O espalhamento de Raios X, até então, considerado um inconveniente, demonstrou ser fundamental para se empregar a EDXRF em análises de elementos leves, mais especificamente COT e MO.

O método EDXRF apresentou uma viabilidade econômica para substituição do método WB em laboratórios que realizam mais de 28 mil amostras de COT por ano e viabilidade de substituição do método Gravimétrico em laboratórios que realizam mais de 14 mil amostras de MO por ano.

A potencialidade de análise multielementar da técnica EDXRF poderia reduzir o custo na determinação de cada parâmetro, possibilitando a utilização desta inclusive por laboratórios com reduzido volume de amostras.

As TGA's realizadas indicam que a temperatura ótima para análise gravimétrica de MO em mufla é de 420°C e o tempo de permanência de 3h.

Constatou-se também que o fator de Van Bemmelen médio obtido com o teor de MO via gravimetria em mufla e COT via WB foi de 4,37 mais alto que os citados na literatura consultada.

7. CONCLUSÕES

A combinação de EDXRF com a PLSR comprovou possuir a precisão e exatidão necessária para aplicação na análise de MO e COT em todos os testes realizados, demonstrando a potencialidade da técnica para este tipo de análise.

A análise dos custos indica que o método de EDXRF é viável para laboratórios com um volume de mais de 28 mil análises por ano.

A aplicação de EDXRF por laboratórios de solos pode solucionar o problema do uso de reagente cancerígeno e possibilita o atendimento da alta demanda com um método rápido, não poluente e de baixo custo, atendendo às necessidades dos grandes laboratórios de análises de solos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Conceição, M. da; Manzatto, C. Estudo comparativo de métodos de determinação do teor de matéria orgânica em solos orgânicos do estado do rio de janeiro. **EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, p. 1–5, 1999.
2. International Programme on Chemical Safety (IPCS) **Environmental Health Criteria 61 - Chromium**. Geneva: 1988.
3. Gomez, C.; Viscarra Rossel, R. a.; McBratney, A.B. Soil organic carbon prediction by hyperspectral remote sensing and field vis-NIR spectroscopy: An Australian case study. **Geoderma**, v. 146, n. 3-4, p. 403–411, 2008.
4. Askari, M.S.; Cui, J.; O'Rourke, S.M.; Holden, N.M. Evaluation of soil structural quality using VIS–NIR spectra. **Soil and Tillage Research**, v. 146, p. 108–117, 2015.
5. Viscarra Rossel, R. a.; McGlynn, R.N.; McBratney, a. B. Determining the composition of mineral-organic mixes using UV-vis-NIR diffuse reflectance spectroscopy. **Geoderma**, v. 137, p. 70–82, 2006.
6. Martelo-Vidal, M.J.; Vázquez, M. Determination of polyphenolic compounds of red wines by UV-VIS-NIR spectroscopy and chemometrics tools. **Food Chemistry**, v. 158, p. 28–34, 2014.
7. Melquiades, F.L.; Santos, F.R. Preliminary Results: Energy Dispersive X-Ray Fluorescence and Partial Least Square Regression for Organic Matter Determination in Soil. **Spectroscopy Letters**, n. DOI:10.1080/00387010.2013.874532, 2014.
8. Singh, V.; Agrawal, H.M.; Joshi, G.C.; Sudershan, M.; Sinha, a K. Elemental profile of agricultural soil by the EDXRF technique and use of the Principal Component Analysis (PCA) method to interpret the complex data. **Applied radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine**, v. 69, n. 7, p. 969–74, 2011.
9. Melquiades, F.L., Thomaz, E.L., Vanin, V.R. Tracers Discrimination of Sediment Provenience in Rural Catchment through EDXRF. In: **AIP conference proceedings**. New York: American Institute of Physics, 2011, p. 312–316.
10. Henrich, A.; Hoffmann, P.; Ortner, H.M.; Greve, T.; Itzel, H. Non-invasive identification of chemical compounds by energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry, combined with chemometric methods of data evaluation. **Fresenius' journal of analytical chemistry**, v. 368, n. 2-3, p. 130–8, 2000.
11. Nguyen, T.H.; Boman, J.; Leermakers, M. EDXRF and ICP-MS Analysis of

Environmental. **X-ray spectrometry**, v. 27, p. 265–276, 1998.

12. Magdoff, F. Building Soils for Better Crops: Organic Matter Management. **Soil Science**, v. 156, n. 5, p. 371, 1993.

13. Resck, D.V.S., Pereira, J., & Silva, J.E. [1991]. Dinâmica da matéria orgânica na região dos cerrados. 22.

14. Dean, W.E.J. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: Comparison with other methods. **Journal of Sedimentary Petrology**, v. 44, n. 1, p. 242–248, 1974.

15. Ben-Dor, E.; Banin, A. Determination of organic matter content in arid-zone soils using a simple “loss-on-ignition” method. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 20, n. 15-16, p. 1675–1695, 1989.

16. Jackson, M.L. Analisis químico de suelos. **Barcelona, Omega**, p. 282–309, 1982.

17. Miyazawa, M.; Pavan, M.A.; Oliveira, E.L. de; Ionashiro, M.; Silva, A.K. Gravimetric determination of soil organic matter. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, n. 5, p. 475–478, 2000.

18. Broadbent, F.E. The soil organic fraction. **Advances in Agronomy**, v. 5, p. 153–183, 1953.

19. Nelson, D.W., Sommers, L.E. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: DL Sparks (Ed.); **Methods of soil analysis. Part 3**. Madison, WI.: Chemical Methods. SSSA Book Series, 1996, p. 961–1010.

20. Sato, J.H. Métodos Para Determinação Do Carbono Orgânico. **Dissertação de Mestrado**, 2013.

21. Tedesco, Marino Jose; Gianello, Clesio; Bissani, Carlos Alberto; Bohnen, Humberto; Volkweiss, S.J. **ANALISES DE SOLO, PLANTAS E OUTROS MATERIAIS**. Porto Alegre - RS: Departamento de solos Faculdade de Agronomia Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995.

22. Walkley, A.; Black, I.A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, v. 37, p. 29–38, 1934.

23. Giovannini, G.; Riffaldi, R.; Levi-Minzi, R. Determination of organic matter in sewage sludges. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v. 16, p. 775–785, 1985.

24. Mebius, L.J. A rapid method for the determination of organic carbon in soil. In: **Analytica chimica acta**. 1960, p. 120–124.

25. Silva, A.C.; Torrado, P.V. Métodos de Quantificação da Matéria Orgânica nos Solos. p.

21–26, 1999.

26. Coats, A.W.; Redfern, J.P. Thermogravimetric Analysis. **Analyst**, v. 88, n. 1053, p. 906–924, 1963.

27. Jenkins, R. **X-Ray Fluorescence Spectrometry**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 1999.

28. Xavier, A. M.; Lima A. G.; Vigna, C. R. M.; Verbi, F.M.; Bortoleto, G.G.; Goraieb, K.; Collins, C.H.; Bueno, M.I.M.S. Marcos da História da Radioatividade e Tendências Atuais. **Química Nova**, v. 3, p. 83–91, 2007.

29. Filho, V.F.N. Técnicas Analíticas Nucleares De Fluorescência De Raios X Por Dispersão De Energia (Ed-Xrf) E Por Reflexão Total (Txrf). p. 1–63, 1999.

30. Robinson, J.W.; Frame, E.M.S.; Il, G.M.F. **Undergraduate Instrumental Analysis, Sixth Edition**. CRC Press, 2004.

31. Bortoleto, G.G. “ **Desenvolvimento De Métodos Analíticos Usando Espectrometria De Raios X E Quimiometria .**” 2007.

32. Compton, A.H. The corpuscular properties of light. **Physical Review Supplement**, v. 1, p. 74–89, 1929.

33. Marcó, L.M.; Greaves, E.D.; Alvarado, J. Analysis of human blood serum and human brain samples by total reflection X-ray fluorescence spectrometry applying Compton peak standardization. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 54, n. 10, p. 1469–1480, 1999.

34. Bos, M.; Vrieling, J.A.M. The influence of scattering processes in quantitative X-ray fluorescence analysis. **Analytica chimica acta**, v. 545, p. 92–98, 2005.

35. Muller, R. **Spectrochemical Analysis by X-Ray Fluorescence**. Springer Science & Business Media, 2012.

36. Soares, F.A.P.; Lopes, H.B.M. **Curso Técnico de Radiologia**. Florianópolis-SC: 2001.

37. Ferreira, M.M.C.; Antunes, A.A.M.; Melgo, M.S.; Volpe, P.L.O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 724–731, 1999.

38. Hopke, P.K. The evolution of chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 500, n. 1-2, p. 365–377, 2003.

39. Parreira, T.F. [2003]. Utilização de métodos quimiométricos em dados de natureza multivariada. *Universidade Estadual de Campinas*.

40. Matos, G.D.; Pereira-Filho, E.R.; Poppi, R.J.; Arruda*, M.A.Z. Análise Exploratória Em Química Analítica Com Emprego De Quimiometria : Pca e Pca de Imagens. **Revista Analytica**, v. 6, p. 38–50, 2003.

41. Martens, H.; Naes, T. **Multivariate calibration**. Chichester and New York: John Wiley and Sons, 1989.
42. Ferreira, D.F. *Análise Multivariada*. p. 400, 1996.
43. Geladi, P.; Kowalski, B.R. Partial least-squares regression: a tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 185, n. 0, p. 1–17, 1986.
44. Kennard, R.W.; Stone, L.A. Computer Aided Design of Experiments. **Technometrics**, v. 11, n. 1, p. 137–148, 1969.
45. INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia Qualidade e Tecnologia **Vocabulário Internacional de Termos de Metrologia Legal**. 2012.
46. INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia Qualidade e Tecnologia [2011]. *Orientação Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*, DOQ-CGCRE-008. Rev.04.
47. Valderrama, P.; Braga, J.W.B.; Poppi, R.J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1278–1287, 2009.
48. Soil Survey Staff **Soil survey field and laboratory methods manual**. Lincoln, Nebraska: Soil survey investigations report no. 51, 2014.
49. Zhu, Y.; Weindorf, D.C.; Zhang, W. Characterizing soils using a portable X-ray fluorescence spectrometer: 1. Soil texture. **Geoderma**, v. 167-168, p. 167–177, 2011.
50. Kaniu, M.I.; Angeyo, K.H.; Mwala, a. K.; Mangala, M.J. Direct rapid analysis of trace bioavailable soil macronutrients by chemometrics-assisted energy dispersive X-ray fluorescence and scattering spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 729, p. 21–5, 2012.
51. Sharma, A.; Weindorf, D.C.; Man, T.; Aldabaa, A.A.A.; Chakraborty, S. Characterizing soils via portable X-ray fluorescence spectrometer: 3. Soil reaction (pH). **Geoderma**, v. 232-234, p. 141–147, 2014.
52. Sharma, A.; Weindorf, D.C.; Wang, D.; Chakraborty, S. Characterizing soils via portable X-ray fluorescence spectrometer: 4. Cation exchange capacity (CEC). **Geoderma**, v. 239-240, p. 130–134, 2015.
53. Wang, D.; Chakraborty, S.; Weindorf, D.C.; Li, B.; Sharma, A.; Paul, S.; Ali, M.N. Synthesized use of VisNIR DRS and PXRF for soil characterization: Total carbon and total nitrogen. **Geoderma**, v. 243-244, p. 157–167, 2015.
54. Tomé Junior, J.B. *Manual para interpretação de análise de solo*. 1997.
55. Beltrán, V.; Blasco, A.; Escardino, A.; Negre, F. Formation of black core during the firing of floor and wall tiles. **InterCeram**, v. 37, p. 15–21, 1988.
56. Wendlandt, W.W.M. *Thermal Analysis*. **WILEY & SONS**, p. 137–460, 1986.

ANEXO I

Resultados obtidos em duplicata pelo método WB para as 152 amostras utilizadas neste trabalho.

Amostra	C (%)			Desvio Padrão
	1ª análise	2ª análise	Média	
1	3,31	3,43	3,37	0,08
2	1,71	1,79	1,75	0,06
3	1,91	1,75	1,83	0,11
4	2,22	2,36	2,29	0,10
5	0,66	0,54	0,60	0,08
6	2,73	2,72	2,73	0,00
7	2,30	2,26	2,28	0,03
8	1,56	1,32	1,44	0,17
9	0,93	0,86	0,90	0,06
10	2,65	2,72	2,69	0,05
11	2,45	2,57	2,51	0,08
12	2,61	2,96	2,78	0,25
13	2,80	2,88	2,84	0,06
14	2,51	2,62	2,56	0,08
15	2,46	2,39	2,43	0,05
16	3,39	4,03	3,71	0,46
17	2,53	2,69	2,61	0,11
18	2,53	2,92	2,72	0,27
19	2,45	2,79	2,62	0,24
20	2,73	3,22	2,97	0,35
21	2,34	2,40	2,37	0,05
22	2,34	2,36	2,35	0,02
23	1,17	0,93	1,05	0,17
24	4,43	4,75	4,59	0,23
25	1,95	1,84	1,90	0,07

Amostra	C (%)			Desvio Padrão
	1ª análise	2ª análise	Média	
26	2,80	2,65	2,73	0,11
27	2,69	2,38	2,53	0,22
28	2,69	2,80	2,75	0,08
29	2,84	2,72	2,78	0,09
30	1,95	1,91	1,93	0,03
31	1,79	1,77	1,78	0,02
32	1,71	1,71	1,71	0,00
33	2,10	1,90	2,00	0,14
34	2,80	2,80	2,80	0,00
35	2,41	2,34	2,38	0,05
36	2,45	2,45	2,45	0,00
37	2,37	2,30	2,34	0,05
38	2,88	2,96	2,92	0,06
39	2,73	2,88	2,80	0,11
40	3,27	3,27	3,27	0,00
41	1,48	1,48	1,48	0,00
42	4,67	4,67	4,67	0,00
43	3,19	3,51	3,35	0,22
44	4,20	4,44	4,32	0,17
45	3,00	3,19	3,10	0,14
46	3,31	3,50	3,41	0,14
47	3,00	2,96	2,98	0,03
48	2,18	2,08	2,13	0,07
49	3,31	3,58	3,45	0,19
50	2,80	2,57	2,69	0,17

Amostra	C (%)			Desvio Padrão
	1ª análise	2ª análise	Média	
51	2,73	2,80	2,76	0,05
52	3,19	3,27	3,23	0,05
53	3,58	3,89	3,74	0,22
54	2,73	2,72	2,73	0,00
55	2,02	1,87	1,95	0,11
56	2,96	2,83	2,89	0,09
57	2,57	2,68	2,63	0,08
58	3,73	3,97	3,85	0,17
59	3,04	3,19	3,11	0,11
60	2,34	2,39	2,36	0,04
61	2,34	2,23	2,28	0,07
62	3,11	3,19	3,15	0,05
63	2,69	2,69	2,69	0,00
64	2,61	2,52	2,57	0,06
65	3,04	3,43	3,23	0,28
66	2,26	2,18	2,22	0,05
67	3,23	3,66	3,45	0,30
68	3,62	4,05	3,84	0,30
69	2,18	2,17	2,18	0,01
70	2,88	2,88	2,88	0,00
71	1,52	1,57	1,55	0,04
72	2,10	2,06	2,08	0,03
73	2,41	2,71	2,56	0,21
74	1,13	1,09	1,11	0,02
75	1,71	1,67	1,69	0,03

Continua na próxima página.

Amostra	C (%)			Desvio Padrão
	1ª análise	2ª análise	Média	
76	2,06	2,16	2,11	0,07
77	2,57	2,39	2,48	0,13
78	2,10	2,11	2,11	0,01
79	2,34	2,43	2,39	0,07
80	2,96	3,10	3,03	0,10
81	2,57	2,58	2,58	0,01
82	2,69	2,76	2,72	0,05
83	2,76	2,70	2,73	0,04
84	2,65	2,55	2,60	0,07
85	3,98	4,36	4,17	0,27
86	2,80	2,76	2,78	0,03
87	2,76	2,72	2,74	0,03
88	3,46	3,43	3,45	0,03
89	3,27	3,27	3,27	0,00
90	2,96	2,88	2,92	0,06
91	1,48	1,68	1,58	0,14
92	2,80	2,88	2,84	0,06
93	3,19	2,96	3,08	0,16
94	2,92	2,77	2,85	0,10
95	3,82	3,35	3,58	0,33
96	1,52	1,49	1,50	0,02
97	1,17	1,21	1,19	0,03
98	1,52	1,56	1,54	0,03
99	2,18	2,09	2,13	0,07
100	0,55	0,54	0,55	0,00

Amostra	C (%)			Desvio Padrão
	1ª análise	2ª análise	Média	
102	3,19	3,11	3,15	0,06
103	3,50	3,35	3,43	0,11
104	1,87	2,00	1,93	0,09
105	1,87	1,98	1,93	0,08
106	2,34	2,36	2,35	0,02
107	3,43	3,50	3,46	0,05
108	1,79	1,70	1,75	0,06
109	2,02	1,98	2,00	0,03
110	1,95	1,89	1,92	0,04
111	2,73	2,53	2,63	0,13
112	2,26	2,05	2,16	0,14
113	1,64	1,77	1,70	0,09
114	2,37	2,42	2,40	0,03
115	1,13	1,13	1,13	0,00
116	2,34	2,48	2,41	0,10
117	2,14	2,19	2,17	0,04
118	0,90	0,88	0,89	0,01
119	2,88	2,96	2,92	0,06
120	2,22	2,33	2,28	0,08
121	1,60	1,65	1,62	0,04
122	2,69	2,63	2,66	0,04
123	1,52	1,64	1,58	0,09
124	4,52	4,98	4,75	0,33
125	3,27	3,27	3,27	0,00
126	2,80	2,76	2,78	0,03

Amostra	C (%)			Desvio Padrão
	1ª análise	2ª análise	Média	
128	2,10	2,19	2,15	0,06
129	3,23	3,27	3,25	0,03
130	1,67	1,84	1,76	0,12
131	1,64	1,73	1,68	0,07
132	2,41	2,56	2,49	0,10
133	1,49	1,25	1,37	0,17
134	1,40	1,33	1,37	0,05
135	2,69	2,63	2,66	0,04
136	2,66	2,80	2,73	0,10
137	1,95	1,81	1,88	0,10
138	1,48	1,35	1,41	0,09
139	0,93	0,98	0,96	0,03
140	0,47	0,48	0,47	0,01
141	0,35	0,35	0,35	0,00
142	0,70	0,74	0,72	0,03
143	1,25	1,25	1,25	0,01
144	2,34	2,29	2,31	0,03
145	1,71	1,75	1,73	0,03
146	2,41	2,53	2,47	0,09
147	2,34	2,34	2,34	0,00
148	1,32	1,30	1,31	0,02
149	2,18	2,60	2,39	0,30
150	1,01	0,94	0,98	0,05
151	2,10	1,91	2,01	0,13
152	2,14	2,08	2,11	0,04

ANEXO II

Resultados obtidos em duplicata pelo método gravimétrico em mufla para as 56 amostras do AT e AMI.

Amostra	AT			Desvio Padrão	Amostra	AMI			Desvio Padrão
	MO (%)					MO (%)			
	1ª análise	2ª análise	Média		1ª análise	2ª análise	Média		
8	4,67	3,86	4,27	0,57	17	10,48	10,70	10,59	0,16
9	2,52	1,71	2,12	0,57	18	11,43	11,52	11,48	0,06
10	6,97	5,92	6,45	0,74	37	9,57	9,53	9,55	0,03
25	5,59	4,92	5,26	0,47	38	13,49	12,94	13,22	0,39
29	13,22	12,65	12,94	0,40	44	15,37	14,83	15,10	0,38
30	5,48	6,42	5,95	0,66	76	11,07	9,10	10,09	1,39
35	12,55	12,79	12,67	0,17	77	11,83	10,15	10,99	1,19
41	5,08	4,74	4,91	0,24	78	13,16	11,84	12,50	0,93
71	5,45	5,19	5,32	0,18	79	12,03	11,96	12,00	0,05
74	3,78	3,38	3,58	0,28	80	14,30	14,44	14,37	0,10
75	7,18	7,58	7,38	0,28	81	14,13	13,18	13,66	0,67
86	14,84	14,48	14,66	0,25	82	13,32	13,31	13,32	0,01
89	11,74	12,59	12,17	0,60	83	13,87	14,09	13,98	0,16
93	12,59	12,53	12,56	0,04	84	12,62	12,46	12,54	0,11
99	10,46	10,10	10,28	0,25	85	13,98	14,16	14,07	0,13
100	2,02	2,79	2,41	0,54	102	15,46	15,06	15,26	0,28
111	8,47	9,10	8,79	0,45	103	14,01	13,61	13,81	0,28
112	5,68	5,99	5,84	0,22	104	8,48	7,91	8,20	0,40
113	4,98	4,66	4,82	0,23	105	7,40	7,79	7,60	0,28
114	7,72	7,00	7,36	0,51	106	8,81	9,19	9,00	0,27
115	3,27	3,35	3,31	0,06	107	16,26	15,41	15,84	0,60
132	6,07	6,39	6,23	0,23	125	13,59	13,70	13,65	0,08
134	4,88	6,07	5,48	0,84	126	13,08	13,21	13,15	0,09
135	2,59	2,71	2,65	0,08	127	15,65	15,60	15,63	0,04
140	7,56	6,74	7,15	0,58	128	8,46	10,67	9,57	1,56
150	6,01	5,87	5,94	0,10	133	3,63	3,25	3,44	0,27
151	10,61	9,16	9,89	1,03	141	22,33	22,18	22,26	0,11
					142	7,66	8,77	8,22	0,78