Campus de São Carlos

**REVISÃO DE MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS
E CROMATOGRÁFICOS APLICÁVEIS NA ANÁLISE
DE NUTRIENTES PRESENTES EM SOLUÇÕES
HIDROPÔNICAS**

**ALUNO: LEONARDO ANTONIO GOMES PILEGGI
ORIENTADOR: Prof. Dr BOHDAN MATVIENKO SIKAR**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**ESCOLA DE ENGENHARIA
DE SÃO CARLOS**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS - CENTRO DE
RECURSOS HÍDRICOS E ECOLOGIA APLICADA-CRHEA

**REVISÃO DE MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS E
CROMATOGRÁFICOS APLICÁVEIS NA ANÁLISE DE
NUTRIENTES PRESENTES EM SOLUÇÕES HIDROPÔNICAS**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Escola de Engenharia de São Carlos – Centro de
Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada - CRHEA da
Universidade de São Paulo para a obtenção do título
De mestre em Ciências da Engenharia Ambiental

Aluno: Leonardo Antonio Gomes Pileggi
Orientador: Prof. Dr. Bohdan Matvienko Sikar

Serviço de Pós-Graduação EESC/USP

EXEMPLAR REVISADO

Data de entrega no Serviço.... 13/07/04

Ass.: *Leonardo Corradi*

SÃO CARLOS
2004

DEDALUS - Acervo - EESC

Class.	TESE EESC ✓
Cutt.	4447
Tombo	T152/04
Sysno	1384265

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

P637r Pileggi, Leonardo Antonio Gomes
Revisão de métodos espectrofotométricos e
cromatográficos aplicáveis na análise de nutrientes
presentes em soluções hidropônicas / Leonardo Antonio
Gomes Pileggi. -- São Carlos, 2004.

Dissertação (Mestrado) -- Escola de Engenharia de
São Carlos-Universidade de São Paulo, 2004.
Área: Ciências da Engenharia Ambiental.
Orientador: Prof. Dr. Bohdan Matvienko Sikar.

1. Espectrofotometria. 2. Cromatografia.
3. Hidroponia. 4. Salinização. . Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel **LEONARDO ANTONIO GOMES PILEGGI**

Dissertação defendida e julgada em 07-04-2004 perante a Comissão Julgadora:

Prof. Dr. **BOHDAN MATVIENKO SIKAR** (Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

aprovado

Prof. Assoc. **VALDIR SCHALCH**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

APROVADO

Prof. Dr. **JAIRO AUGUSTO CAMPOS DE ARAUJO**
(UNESP/Campus de Jaboticabal)

APROVADO

Prof. Associado **EVALDO LUIZ GANTA ESPINDOLA**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Engenharia Ambiental

Profa. Assoc. **MARIA DO CARMO CALIJURI**
Presidente da Comissão de Pós-Graduação

À minha família, que me ensinou
a caminhar em direção a uma vida
de dignidade, amor e paz.
À minha amada Thais que a cada
dia significa para mim a alegria
e a vontade de viver.

**“ Um homem só pode ser medido
pela dimensão de seu sonho,
e só pode ser julgado pelos
seus atos e não palavras ”**

Agradeço à Deus, Jesus Cristo e a todos os companheiros de jornada por todos os momentos, agradáveis ou não que auxiliam no tortuoso caminho da evolução espiritual.

Aos meus pais, Raphael e Emília, por mostrarem o caminho através de seus exemplos acima de tudo pelos ensinamentos de conduta moral em todas as situações da vida e pela perseverança e incentivo na formação profissional e pessoal. Aos meus irmãos Mônica, Flávia e Giuliano, por formarem uma verdadeira família onde a compreensão, o carinho e o amor imperam. Aos meus cunhados, Celso, Sílvio e Gisele, pela convivência, companheirismo e amizade. Aos meus queridos sobrinhos, Rafaella, Brunna, Giovanni, Lucas, Giovana e Gabriel, pelos momentos constantes de alegria e paz que impulsionaram toda essa caminhada.

À minha segunda família, Ruy, Graça, Paula, David, Lucas, Ruyzinho, Francine e Bruno por me acolherem como um filho me apoiando e incentivando sempre.

Aos meus amigos Ronaldo, Daniel, Lys e Daniela pelo companheirismo e pela amizade verdadeira ao longo dos anos.

Ao Prof. Dr Bohdan Matvienko Sikar pela orientação e apoio durante a realização do trabalho. Ao Prof. Dr Jairo Augusto Campos Araújo pela ajuda indispensável, como um verdadeiro orientador, na realização deste trabalho. À CAPES pelo auxílio financeiro.

À minha Thais pela dedicação em todos os momentos, pelo carinho e afeto do dia-dia e pelo amor que ilumina meu ser.

SUMÁRIO

1- RESUMO	09
2- INTRODUÇÃO	11
3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1- CULTIVO HIDROPÔNICO	18
3.1.1- Estrutura Hidropônica	18
3.1.1a- Estufas	19
3.1.1b- Reservatórios	20
3.1.1c- Sistema Moto-Bomba e Encanamentos	20
3.1.2- Nutrientes	21
3.1.2a- Nutrição Vegetal	21
3.1.2b- Solução Nutritiva	25
3.2- SALINIZAÇÃO DO SOLO	29
3.3- MÉTODOS DE ANÁLISES QUÍMICAS	32
3.3.1- Conceitos Gerais	32
3.3.2- Espectrofotometria	35
3.3.2a- Espectrofotometria de Absorção Atômica	40
3.3.3- Cromatografia	43
3.3.3a- Cromatografia por Troca Iônica	51
3.3.3b- Cromatografia Iônica	53
3.3.4- Eletroforese Capilar	56
3.4- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DOS MÉTODOS DE ANÁLISE DE NUTRIENTES EM HIDROPONIA	58

4- MÉTODOS PROPOSTOS PARA ANÁLISE DE NUTRIENTES PRESENTES EM SOLUÇÕES HIDROPÔNICAS	61
5- CONCLUSÕES E SUGESTÕES FUTURAS	66
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1- RESUMO

As técnicas de cultivo sem solo representam novas alternativas para a produção de alimentos. Dentre estas, a hidroponia tem crescido muito ultimamente devido ao fato de, principalmente, apresentar altas produtividades, além de inúmeras vantagens em relação ao cultivo em solo. Entretanto, alguns pontos específicos no processo podem ser considerados questionáveis. Problemas relacionados ao manejo da solução nutritiva, em muitos casos, podem gerar tanto problemas produtivos como ambientais. Dessa forma o entendimento da marcha de nutrientes da solução nutritiva se torna imprescindível no sentido de minimizar tais problemas.

Baseado nestas considerações, o presente trabalho teve como objetivos: a realização de revisões bibliográficas dos principais métodos de análise dos nutrientes presentes em soluções hidropônicas; a descrição e proposição de utilização dos métodos de espectrofotometria colorimétrica, de absorção e emissão atômica para análise da solução; a realização de revisões bibliográficas de trabalhos, realizados por diversos autores, relacionados às análises de soluções hidropônicas; a discussão dos problemas ambientais que esta atividade pode causar.

Os principais métodos considerados foram: espectrofotometria colorimétrica, espectrofotometria de absorção e emissão atômica, cromatografia iônica e eletroforese capilar. Através da revisão dos estudos realizados com soluções hidropônicas, pôde-se observar uma predominância na utilização das técnicas relacionadas acima, para a análise dos nutrientes.

O manejo da solução hidropônica pode levar à ocorrência de certos problemas. Os descartes sucessivos das soluções nas áreas adjacentes à

produção acarretam em desperdício de água e fertilizantes, e causam a salinização dos solos. Neste processo o solo torna-se estéril e assim, inapropriados para o cultivo.

Desta forma, a proposta final deste trabalho é propiciar uma base teórica inicial para que futuros estudos possam ser direcionados ao desenvolvimento de novas técnicas de análise em campo que produzam resultados confiáveis, e desta forma colaborarem com a minimização dos problemas relacionados à produção e ao meio ambiente.

2- INTRODUÇÃO

As técnicas de cultivo sem solo proporcionam as mesmas condições físicas e químicas de desenvolvimento do que as encontradas no solo, com a diferença de que para isso, utilizam substratos, tanto sólidos, como líquidos (Castellane & Araujo, 1995). A hidroponia (do grego “hydro”= água e “ponos”= trabalho) tem se desenvolvido rapidamente como uma dessas técnicas de produção vegetal, sobretudo de hortaliças sob cultivo protegido.

O termo hidroponia foi criado na década de 30 pelo Dr. W. F. Gerike. A partir dessa época, a técnica se espalhou pelos Estados Unidos e pelo mundo, sofrendo um grande impulso a partir de sua larga utilização na Segunda Guerra Mundial (Douglas, 1987). A utilização do sistema hidropônico, em diversos países, tem mostrado inúmeras vantagens com relação ao cultivo em solo, quanto a uma maior qualidade, maior uniformidade e produtividade, com menos mão de obra e com reduzida utilização de água, adubos e substâncias tóxicas, o que mostra o importante significado de sua aplicação, tanto em países com solo e clima favoráveis, como em países onde estes recursos são escassos (Furlani, *et al.*, 1999). A Tabela 1 mostra a comparação das produções de algumas hortaliças cultivadas em estufas com sistema hidropônico e em campo.

Na hidroponia os elementos químicos são oferecidos às plantas através de uma solução nutritiva. Esta solução é preparada com a adição de sais inorgânicos específicos na água, o que leva a ocorrer dissociação dos sais em unidades com carga elétrica denominadas íons, que então são absorvidos pelas plantas. A absorção relativa dos diversos elementos pelas plantas está relacionada com as condições ambientais (temperatura, luz,

umidade), com o pH da solução, com a natureza da cultura e com o estágio de desenvolvimento da planta. No sistema hidropônico conhecido como aberto, a solução pode ser aplicada uma única vez às plantas. Já no sistema hidropônico fechado, a solução pode ser aplicada, o excesso recuperado, reabastecido com água ou água e nutrientes e finalmente reaplicado no sistema (Castellane & Araujo, 1995).

Tabela 1. Produção de hortaliças cultivadas em sistema hidropônico e em campo.

Culturas	Hidroponia	Campo
	Ton/Hect/Ano	Ton/Hect/Ano
Brócolis	97,5	10,5
Feijão-vagem	46,0	6,0
Repolho	172,5	30,0
Couve-chinesa	200,0	-
Pepino	750,0	30,0
Berinjela	56,0	20,0
Alface	313,0	52,0
Pimentão	96,0	16,0
Tomate	375,0	100,0

Fonte: Adaptado de Castellane & Araujo, 1995

Baseado nesses sistemas pode-se encontrar diversas variações estruturais como: Sistema NFT (*Nutrient film technique*) ou técnica de fluxo laminar de nutrientes onde a solução nutritiva é bombeada aos canais de produção, escoar por gravidade formando uma fina lâmina de solução nas raízes e retorna ao tanque de mistura da solução sendo reaproveitada;

Sistema DFT (*Deep film technique*), mais conhecida como “floating”, onde a solução nutritiva forma uma lâmina profunda (piscina) na qual as raízes ficam submersas, não existindo desta forma canais; Sistema com substratos que são utilizados para sustentação de plantas de maior porte, onde a solução nutritiva é percolada através do substrato (areia, pedras, vermiculita, espuma fenólica, lã-de-rocha, etc) localizado em vasos ou canaletas, e drenada na porção inferior destas estruturas para o tanque de solução (Castellane & Araujo, 1995; Furlani, *et al.*, 1999).

As espécies vegetais cultivadas em hidroponia apresentam necessidades nutricionais específicas, mas o importante é que sempre haja um constante equilíbrio dos nutrientes na solução, de forma que ao longo do tempo, os elementos essenciais estejam à disposição dentro de faixas limitadas, não devendo ocorrer escassez nem excesso de determinados nutrientes.

Com o passar do tempo, os nutrientes adicionados na solução inicial são consumidos gradativamente pelas plantas e desta forma, cria-se a necessidade de sua reposição na mesma proporção da solução inicial. Esta reposição pode ocasionar o acúmulo de alguns nutrientes e falta de outros, o que, com certeza, causará um desequilíbrio na solução nutritiva. Como descrito por Boivin (1990), a acumulação geralmente ocorre com sulfatos que são continuamente adicionados por estarem contidos nos fertilizantes como sulfato de potássio e sulfato de magnésio. Da mesma forma que o sulfato, cloreto e bicarbonato tem a tendência de se acumularem na solução e desta forma interferirem no desenvolvimento da planta (Baars, 1992). O desequilíbrio nutricional altera a fisiologia das plantas, e conseqüentemente, será responsável por um crescimento anormal que pode ser causado tanto pela deficiência como pelo excesso de um ou mais dos

elementos essenciais. Sabe-se que o acúmulo de cloreto, cobre e zinco podem atingir níveis tóxicos para as plantas (Resh, 1992; Castellane & Araujo, 1995).

Atualmente, o método mais utilizado para se determinar a grosso modo a concentração da solução nutritiva, no campo, é a condutividade elétrica. A partir da dissociação, ocorre, na solução, a movimentação dos íons, o que cria a capacidade de conduzir corrente elétrica, sendo possível desta forma, através de um aparelho chamado condutivímetro, medir, em unidades de microsiemens ($\mu\text{S}/\text{cm}$) ou milisiemens (mS/cm), a soma das concentrações dos nutrientes na solução. A condutividade de uma solução pode ser estimada teoricamente a partir da condutividade específica dos íons que é quase uma constante. Cada miliequivalente por litro de um íon contribui aditivamente com aproximadamente $60 \mu\text{S cm}^{-1}$. Segundo Resh, 1992, apesar da condutividade elétrica ser uma ferramenta bastante útil em hidroponia, o grande problema é que ela fornece apenas informações sobre a concentração total de sais na água, mas não informa sobre as concentrações individuais de cada elemento essencial, sendo pouco afetada pelas concentrações dos micronutrientes. Desta forma, torna-se recomendável à realização de análises químicas periódicas, em laboratórios especializados, para se evitar estes desequilíbrios. Na realidade, esta prática não é tão comum, pois, além dos elevados custos das análises, leva-se algum tempo para se obter os resultados.

Devido às dificuldades apontadas, em um sistema fechado, a vida útil da solução nutritiva, ou seja, o tempo para renová-la, é de três a quatro semanas, isto em função da estação do ano, do estágio de desenvolvimento das plantas e de sua população. Segundo Castellane & Araujo (1995),

durante a fase de pleno desenvolvimento das plantas, o tempo de renovação pode chegar ao limite de apenas quatro dias.

Na hidroponia, onde o meio utilizado no cultivo sem solo é líquido, a renovação da solução nutritiva é precedida pelo descarte da solução anterior, que ainda possui nutrientes. Em decorrência desse fato, o procedimento geral dos produtores hidropônicos baseia-se na aplicação da solução descartada em jardins ou pomares próximos a hidroponia. Isto é feito tanto com o intuito de enriquecer o solo, quanto de se livrar da solução. No entanto, com o passar do tempo, este solo poderá se tornar salinizado, ou seja, não apropriado para utilizações posteriores, causando assim, prejuízos para o meio ambiente.

Segundo Bernardes (1997), a prática de descarte da solução no solo pode levar à poluição das águas subterrâneas com nitrato, fato que está ocorrendo em países desenvolvidos. De acordo com Mondin (1996), o nitrato consumido pelo ser humano seja pela água ou pelas hortaliças como a alface, pode, em conjunto com aminas, ser prejudicial à saúde. Esta união pode levar a formação de compostos conhecidos como nitrosaminas que são, comprovadamente, considerados carcinogênicos. Outro prejuízo causado pela renovação constante da solução relaciona-se ao desperdício de água, apesar de ser menor em comparação ao observado em cultivos que utilizam o solo.

Em relação às formas de análise da solução nutritiva, Bernardes (1997) ressalta que, não há no mercado mundial um equipamento portátil que identifique com razoável precisão e rapidez a concentração de cada nutriente na solução nutritiva. Desta forma, a hidroponia poderá se beneficiar, tanto com a análise sistemática das soluções no laboratório, a qual, proporcionará o conhecimento adequado das concentrações dos

nutrientes no início de cada fase de crescimento e durante as mesmas, como com o desenvolvimento de uma metodologia de análises químicas, que poderá ser utilizada no campo, tornando-se de fundamental importância para a otimização da produção, e para a redução dos danos ambientais.

A química analítica é a ciência que permite a determinação da composição química de amostras a serem investigadas. Basicamente, os métodos analíticos são divididos em quantitativos e qualitativos, ou seja, fornecem informações numéricas dos componentes presentes nas amostras, ou informações sobre a identidade das espécies atômicas ou moleculares da matéria. Na análise quantitativa, se o componente de interesse (analito) constituir mais que 1% da amostra é considerado como constituinte principal; se constituir entre 0,01 a 1% da amostra é considerado como constituinte secundário; é considerado como constituinte traço se o analito estiver presente menos do que 0,01% da amostra (Day, Jr. & Underwood, 1991).

Conforme Skoog *et al.* (2002), os métodos analíticos podem ser classificados em duas categorias, como clássicos ou instrumentais. No método clássico, os componentes de interesse separados da amostra, são analisados qualitativamente através de determinadas reações que resultam em produtos que podem ser reconhecidos por suas cores, seus pontos de ebulição ou fusão, seus odores, solubilidade e suas atividades ópticas. Para análises quantitativas, a quantidade de analito é determinada através de medidas gravimétricas e titulométricas. No método instrumental, a determinação quantitativa baseia-se na análise de certas propriedades físicas como condutividade, potencial de eletrodo, emissão ou absorção da luz, razão massa/carga e fluorescência.

Na análise química de elementos contidos em uma amostra, o instrumento analítico basicamente, converte a informação armazenada nas características físicas ou químicas do analito em um tipo de informação que pode ser interpretada. Dessa forma pode-se dizer que a informação é codificada e as várias formas de codificação são denominadas de domínios de dados. Os domínios podem ser classificados em não-elétricos (físico-químico, posição em escala, número) e elétricos (corrente, voltagem, carga, frequência, largura de pulso, fase, etc). Os dispositivos responsáveis pela identificação, registro ou indicação de alterações desses domínios são conhecidos como detectores, transdutores ou sensores. Nos instrumentos analíticos, o dispositivo de saída é formado por um transdutor que converte informações de um domínio de dados a um domínio que possa ser interpretado pelo observador. Geralmente, conectado a este dispositivo encontram-se amplificadores, conversores analógico-digital, contadores, microprocessadores e computadores (Skoog *et al.*, 2002).

O presente trabalho baseia-se em um aprofundamento teórico nas técnicas laboratoriais de análises químicas, com o intuito de contribuir, de alguma forma, tanto em direção a uma maior qualidade de produção, como a um desenvolvimento mais sustentável do cultivo hidropônico. Este trabalho teve como objetivo a realização de revisões bibliográficas dos seguintes temas:

- Métodos de análises químicas aplicáveis à análise de nutrientes presentes em soluções hidropônicas
- Conceitos gerais de hidroponia e dos nutrientes presentes nas soluções hidropônicas
- Processo de salinização de solos

3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1- CULTIVO HIDROPÔNICO

3.1.1- Estrutura Hidropônica

Atualmente, a utilização do sistema fechado denominado NFT (Nutrient film technique) tem crescido bastante. Como descrito por Baars (1992), a nova legislação ambiental européia indica para que os produtores de culturas em ambiente protegido invistam em sistemas fechados de produção, pois o efluente das casas de vegetação pode ser captado, tratado e reutilizado. Neste sistema, a solução nutritiva é bombeada, a partir de um reservatório localizado abaixo do nível do solo, até as cabeceiras das bancadas, e escoar por gravidade pelos canais de cultivo criando um fluxo em lâmina, o qual, irriga as raízes que se encontram por volta de 2/3 submersas nesta solução. Ao final, a solução é recuperada no reservatório, a partir do qual, o processo é reiniciado (Furlani *et al.*, 1999).

As mudas para esse sistema de cultivo são normalmente produzidas em cubos de lã mineral, espuma fenólica ou em pequenos recipientes. Após o período de crescimento inicial, as plantas são transplantadas, geralmente com o próprio substrato, para os canais de produção onde ocorrerá o término de seus ciclos de vida (Martinez & Silva Filho, 2004).

A qualidade da água utilizada é de grande importância, pois a presença inicial excessiva de certos íons, pode prejudicar o crescimento da planta e até levá-la à morte. Portanto, antes de utilizar qualquer tipo de água é necessário analisá-la para saber qual a concentração dos nutrientes, principalmente de cálcio, magnésio, ferro, carbonatos, sulfatos e cloretos, pois estes, normalmente são encontrados em águas de poços artesianos (Bernardes, 1997).

3.1.1a- Estufas

As estufas ou casas de vegetação são estruturas construídas com o intuito de proteger as plantas da ação do tempo, principalmente em regiões com excesso de chuvas ou de baixas temperaturas. Atualmente com o avanço tecnológico, pode-se controlar completamente o ambiente interno da estufa, aumentando ou diminuindo a temperatura, controlando a umidade, a intensidade de luz, etc. Os materiais mais comumente usados na construção são madeira, metal e cimento e na cobertura transparente são polietileno, vidro e telhas de fibra de vidro.

Antes da instalação deve-se tomar alguns cuidados como: construir a estufa no sentido dos ventos o que visa diminuir os danos causados pelos ventos no plástico; se os ventos forem muito fortes, deve-se utilizar quebra-ventos naturais ou artificiais; construir a estufa preferencialmente em terreno plano ou com pequena inclinação; evitar construir em locais que possa ocorrer sombreamento, pois o desenvolvimento das plantas nestas condições será afetado; próximo à estufa deve haver disponibilidade de água para abastecer o sistema (Bliska Jr. *et al.*, 1998).

Atualmente existem diversos modelos de estufas utilizados de acordo com as necessidades locais. Estufas que apresentam estrutura tipo capela, ou seja, semelhante a um galpão com duas águas formando um triângulo, são recomendadas para regiões de altas precipitações. Estufas com teto em arco apresentam algumas vantagens como o maior aproveitamento dos raios solares. Outro modelo cujas paredes laterais e o teto encontram-se em conjunto e formam uma estrutura tipo túnel, apresenta como vantagem à maior resistência às ações climáticas (Martinez & Silva Filho, 2004).

3.1.1b- Reservatórios

Os reservatórios têm por finalidade armazenar a solução nutritiva em condições adequadas. Os reservatórios utilizados nesse sistema podem ter diversas formas e serem formados de vários materiais. Entretanto todos os tipos devem ter em comum a característica de não liberarem substâncias que interfiram na solução hidropônica e que não sejam tóxicas para as plantas. A forma, o tamanho e a localização dos reservatórios dependem da disponibilidade no mercado e da estrutura do sistema hidropônico adotado. Todos os reservatórios devem ter em comum a existência, em suas bases, de orifícios para o esgotamento, o que facilita a substituição da solução e a limpeza dos mesmos (Castellane & Araujo, 1995).

3.1.1c- Sistema Moto-Bomba e Encanamentos

O sistema moto-bomba tem a função de impulsionar a solução através dos encanamentos até as bancadas de produção em quantidade suficiente para a irrigação das raízes. As bombas mais recomendadas para hidroponia são as que possuam elementos internos resistentes à corrosão e que apresentem uma potência de menos de $\frac{1}{2}$ cavalo-vapor (CV), o que é suficiente para abastecer várias unidades de cultivo. O acionamento deste sistema é realizado pelo controlador de tempo (timer) que normalmente é ajustado para ligar de 15 em 15 minutos (Furlani *et al*, 1999).

O sistema de encanamentos é composto de uma tubulação principal, normalmente de P.V.C. rígido, e de tubulações secundárias ligadas à principal. Essa tubulação leva a solução para as bancadas de produção que são compostas, geralmente, de canais de P.V.C. ou polietileno. Os canais variam de tamanho dependendo diretamente do tipo de cultivo. Os canais devem apresentar declividade de aproximadamente 2% para manter um

fluxo que, por gravidade, atinge todo o sistema e retorna ao reservatório inicial através dos encanamentos (Martinez & Silva Filho, 2004).

3.1.2- Nutrientes

3.1.2a- Nutrição Vegetal

A composição de uma planta em geral é de 80 a 95% de água. Considerando-se apenas a matéria seca, cerca de 90% é formado apenas por oxigênio, carbono e hidrogênio, ou seja, no interior de uma planta há, aproximadamente, 1,5% de todos os outros elementos que a compõe (Resh, 1992).

As plantas absorvem seus nutrientes não minerais, como o carbono (C), hidrogênio (H) e oxigênio (O), através da água e do ar atmosférico, mas diferentemente dos animais, os elementos químicos essenciais para o metabolismo vegetal são de natureza inorgânica, sendo estes absorvidos através do sistema radicular. Esses nutrientes foram assim considerados seguindo os princípios de essencialidade de Arnon & Stout (1939) descritos por Resh (1992): 1- A ausência de um elemento impossibilitará a planta de completar seu ciclo de vida; 2- Um elemento deve apresentar uma ação específica e desta forma nenhum outro deve substituí-lo completamente em sua ausência; 3- O elemento deve estar diretamente envolvido na nutrição da planta, ou seja, ser um constituinte de um metabólito essencial, ou fazer parte de um sistema enzimático. Os elementos químicos essenciais são divididos em macronutrientes e micronutrientes, de acordo com as quantidades requeridas pelas plantas. Os macronutrientes compreendem nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S). Os micronutrientes são boro (B), cloro (Cl), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e molibdênio (Mo).

Os parágrafos seguintes referem-se às funções que os nutrientes desempenham, assim como os problemas causados por seus excessos ou deficiências nas plantas (Baseado em Resh, 1992; Bernardes, 1997):

- Nitrogênio - Função: Elemento fundamental na formação de proteínas que são responsáveis pela formação estrutural dos tecidos vegetais, além de fazer parte de compostos importantes no metabolismo como clorofila, alcalóides, hormônios, enzimas e vitaminas. Deficiência: Causa redução no crescimento das plantas; folhas com clorose (amareladas) pela perda de clorofila; caules mais finos e fracos; floração prematura e em pequena quantidade; frutificação insignificante. Excesso: Plantas com coloração verde-escuro com folhas abundantes mas com raízes reduzidas; tecidos mais tenros o que facilita o ataque de pragas; frutificação tardia e afetada; planta mais sensível à seca.
- Fósforo - Função: Faz parte do DNA, participa da respiração e da produção de energia; participa da formação de composto de reserva como o amido; contribui para a manutenção da saúde geral da planta; responsável por uma produção maior e de melhor qualidade. Deficiência: Redução no desenvolvimento da planta; coloração verde-escuro; acumulação de antocianina; menor ramificação e crescimento radicular; tecidos pouco resistentes. Excesso: Tecidos mais duros e quebradiços; pode causar a diminuição na absorção de nitrogênio, cobre e zinco.
- Potássio - Função: Participa na formação de açúcares para as plantas; contribui para a manutenção da saúde geral da planta; responsável por uma produção maior e de melhor qualidade. Deficiência: Clorose e necrose nas folhas; folhas sem brilho; redução no desenvolvimento

das plantas; frutificação ausente ou desigual; torna a planta mais susceptível à doenças. Excesso: Pode causar deficiência de magnésio, manganês e zinco nas plantas; apresenta função antagonica com o nitrogênio.

- Cálcio - Função: Apresenta papel fundamental na manutenção do equilíbrio de acidez e alcalinidade da solução e da seiva da planta. Deficiência: Inibição no desenvolvimento dos talos e da planta em geral; pode ocorrer morte das extremidades das raízes; clorose e necrose nas extremidades das folhas. Excesso: Provoca sintomas semelhantes aos de deficiência de potássio.
- Magnésio - Função: Faz parte na composição da clorofila e da pectina; elemento com alta mobilidade no interior das plantas. Deficiência: Provoca, inicialmente, clorose nas margens e entre as nervuras das folhas mais velhas. Excesso: Clorose entre as nervuras e até necrose.
- Enxofre - Função: Entra na composição das proteínas associando-se ao nitrogênio. Deficiência: Clorose nas folhas novas. Excesso: Redução no crescimento e no tamanho das folhas; clorose entre as nervuras.
- Ferro - Função: Auxilia na formação da clorofila. Deficiência: Clorose entre as nervuras das folhas mais novas. Excesso: Algumas vezes podem aparecer pontos de necrose
- Boro - Função: Parece ter nas plantas, função semelhante às vitaminas para os animais; presente nas células em divisão; importante na formação das flores, frutos e raízes. Deficiência: Os sintomas variam de acordo com cada espécie; crescimento anormal com folhas novas pequenas e deformadas; geralmente podem causar

a morte dos talos e da zona meristemática apical das raízes. Excesso: Clorose e necrose da base até as margens e vértices das folhas.

- Manganês - Função: Auxilia na formação da clorofila e na respiração; age como catalisador em algumas reações. Deficiência: Clorose entre as nervuras das folhas que se inicia nas margens das folhas e avança para o centro; em alguns casos pode ocorrer necrose. Excesso: Redução no crescimento; pode causar uma deficiência de ferro.
- Cloro - Função: Auxilia na fotossíntese na fase fotoquímica. Deficiência: Clorose e necrose nas folhas; pouco desenvolvimento do sistema radicular. Excesso: Desenvolvimento da planta reduzido; redução no tamanho das folhas; bordas das folhas se encontram queimadas.
- Zinco - Função: Provavelmente tem alguma importância no metabolismo vegetal. Deficiência: Redução no tamanho das folhas; clorose entre as nervuras; florescimento e frutificação afetados. Excesso: Causa clorose férrica nas plantas.
- Cobre - Função: Fundamental nos processos de oxidação e redução; é encontrado em enzimas. Deficiência: Plantas se tornam amarelas e as extremidades das folhas se tronam brancas e morrem. Excesso: Desenvolvimento das plantas reduzido por sintomas de clorose férrica; escurecimento anormal das raízes.
- Molibdênio - Função: Contribui na assimilação do nitrato pelas plantas. Deficiência: Pode aparecer clorose entre as nervuras das folhas. Excesso: Raramente observado; as folhas de tomate podem tornar-se amarelo brilhante.

3.1.2b- Solução Nutritiva

A solução nutritiva pode ser considerada como um dos componentes mais importantes de todo o sistema hidropônico, pois qualquer erro de manejo pode acarretar prejuízos às plantas.

A elaboração da solução inicia-se com a verificação da qualidade da água a ser utilizada. Águas provenientes de poços artesianos, fonte natural e canalizada da rua podem ser utilizadas. Entretanto, recomenda-se a prévia realização de análises químicas dessa água inicial. A Tabela 2 mostra os índices de qualidade para a água usada em hidroponia.

Tabela 2. Qualidade da água utilizada em hidroponia

Característica	Boa	Aceitável	Máximo
C.E. (mS/cm)	< 0,75	0,75-1,50	2,0
pH	6,50	6,80	7,5
HCO ₃ ⁻ mmol.L ⁻¹	1,60	3,30	6,6
Na ⁺ mmol.L ⁻¹	0,87	1,30	2,61
Cl ⁻ mmol.L ⁻¹	1,14	1,71	2,86
SO ₄ ⁻ mmol.L ⁻¹	0,83	1,26	2,08
Ca ⁺⁺ mmol.L ⁻¹	6,50	10,00	14,00
Fe µmol.L ⁻¹	-	-	0,08
Mn µmol.L ⁻¹	-	-	0,04
Zn µmol.L ⁻¹	-	-	0,02
B µmol.L ⁻¹	-	-	0,03

Fonte: Martinez & Silva Filho, 2004

Atualmente existem várias formulações de soluções nutritivas desenvolvidas por diversos autores. Entretanto, não existe uma solução que possa ser considerada melhor que outra, pois o consumo de nutrientes está diretamente ligado à espécie utilizada, às condições ambientais e ao estágio de desenvolvimento da cultura. As faixas de variações usuais nas concentrações dos nutrientes em soluções hidropônicas podem ser vistas na Tabela 3. Segundo Resh, 1992, algumas espécies podem necessitar ainda de outros elementos como silício, alumínio, cobalto, vanádio e selênio que são utilizados no desenvolvimento destas plantas. Juntamente a estes, outros elementos como o sódio e o níquel tem sido considerados benéficos para o desenvolvimento de certas espécies vegetais (Castellane & Araujo, 1995; Furlani *et al*, 1999).

Tabela 3. Concentrações usuais de nutrientes em soluções hidropônicas.

Macronutrientes						Micronutrientes							
g/1000L						mg/1000L							
N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cl	Cu	Fe	Mn	Zn	Mo	
168	15	234	120	24	32				1953	549	65	38	
a	a	a	a	a	a	≥216	---	≥32	a	a	a	a	
210	31	312	200	48	64				2511	1098	260	67	

Fonte: Martinez *et al*, 1999.

Os nutrientes colocados no tanque com 2/3 de água para se formar a solução nutritiva, normalmente, são obtidos por fertilizantes químicos comerciais. Na escolha dos fertilizantes, devem ser considerados a solubilidade, a ausência de elementos tóxicos às plantas e o custo. Os fertilizantes que contêm os macronutrientes devem ser colocados, após

pesagem exata indicada pela formulação escolhida, um a um no tanque com água. Após diluição de todos os macronutrientes, coloca-se os micronutrientes na forma de solução concentrada e em seguida a solução de ferro quelatizado. O ferro recebe esse tratamento, pois de outra forma pode ocorrer sua precipitação no interior do reservatório. Posteriormente à adição dos nutrientes, completa-se o volume do reservatório com água e toda a solução é homogeneizada. Em seguida corrige-se o pH para a faixa entre 5,5 a 6,5 com a adição de, por exemplo, ácido clorídrico ou hidróxido de sódio. Finalmente, a solução pode ser bombeada para os canais de produção iniciando-se assim o ciclo (Martinez & Silva Filho, 2004).

Durante o processo de desenvolvimento das plantas, rápidas alterações acontecem no ambiente radicular devido à falta de capacidade tampão da solução. Desta forma, o monitoramento da solução deve ser contínuo e, se necessário, correções devem ser feitas tanto no volume de água, quanto no pH e na concentração de nutrientes. Deve-se salientar que a reposição de água deve ser feita diariamente, enquanto a de nutrientes não, pois as plantas absorvem, proporcionalmente, mais água do que nutrientes e dessa forma a reposição de nutrientes diária levaria a um aumento na pressão osmótica nas raízes e a uma diminuição na absorção dos mesmos (Martinez & Silva Filho, 2004).

A reposição de nutrientes normalmente é realizada a partir de medidas da condutividade elétrica. Os valores de condutividade variam de acordo com a formulação e com os fertilizantes usados. Geralmente, os valores se encontram na faixa de 2,0 a 4,0 mS/cm. A partir da condutividade inicial, se os valores caírem de 30 a 50%, deve-se efetuar a reposição proporcional de forma a restaurar a solução aos valores iniciais (Castellane & Araujo, 1995).

Em relação à disposição dos elementos no interior das plantas pode-se agrupá-los em categorias, como, móveis (N, P, K e Mg), intermediários (Mn, S, Fe, Cu, Zn e Mo) e imóveis (Ca e B). A partir dessa classificação, torna-se mais fácil a identificação de sintomas de deficiência dos elementos nas plantas (Furlani, 1999). A rápida identificação dos sintomas de deficiência é importante não só pelo fato de proporcionar o ajuste da concentração de determinado nutriente, mas também porque a deficiência de um elemento pode levar a uma ação antagônica em relação a outros elementos.

Como descrito por Resh (1992), a deficiência de boro pode causar uma deficiência de cálcio, da mesma forma que a deficiência de cálcio pode levar a uma deficiência de potássio. Segundo Sistrunk & Storey (1987), culturas de pepinos com deficiência de nitrogênio, apresentaram concentrações maiores de Ca, Mg, e P do que as plantas que receberam solução nutritiva completa e, juntamente, a deficiência de boro levou a uma maior concentração de zinco nas plantas. A utilização de uma formulação com elevados níveis de cálcio causou um aumento na concentração de cálcio e uma redução na concentração de potássio nas folhas, no talo e nas flores de variedades de cravos (Huett, 1994). Como descrito por Reddy e Mills (1991), o nitrato usado como fonte de nitrogênio, causou um aumento na concentração de manganês em espécies de cravos. A concentração de cálcio e magnésio presentes nos tecidos de inhame foi reduzida pela utilização de altas concentrações de cloreto de sódio na solução nutritiva (Hill *et al.*, 1998). Tabela 4.

Da mesma forma, vários outros trabalhos encontrados na literatura científica mostram diversas relações, nas quais, tanto o excesso como a

falta de certos nutrientes pode levar a uma maior ou menor concentração de determinados nutrientes.

Tabela 4. Revisão bibliográfica de trabalhos que mostram interações entre nutrientes na solução hidropônica e na planta.

Solução Nutritiva	Efeito na Planta	Autor
↓ B	↓ Ca	Resh, 1992
↓ Ca	↓ K	
↓ N	↑ Ca, Mg e P	Sistrunk & Storey, 1987
↓ B	↑ Zn	
↑ Ca	↑ Ca e ↓ K	Huett, 1994
Nitrato	↑ Mn	Reddy & Mills, 1991
↑ NaCl	↑ Ca e Mg	Hill <i>et al</i> , 1998

↑: Aumento; ↓: Redução

3.2- SALINIZAÇÃO DO SOLO

Após vários estudos, verificou-se que a germinação das sementes e o desenvolvimento normal da planta, em seu primeiro estágio de crescimento, podem ser prejudicados pelo aumento excessivo da pressão osmótica da solução do solo resultante de uma quantidade elevada de sais solúveis. Sabe-se que a força propulsora do movimento da água do solo para os tecidos das plantas reside exclusivamente na diferença de pressão osmótica, ou seja, a pressão osmótica dos tecidos deve ser menor que a da solução do solo. Quando a pressão osmótica da solução do solo permanece

mais elevada que a dos tecidos da planta, a água não penetra neles para desempenhar suas funções importantes, de transportar nutrientes para que as plantas cresçam (Coelho, 1973).

Os fertilizantes aumentam a concentração salina da solução do solo. O índice salino de um fertilizante mede essa concentração salina. A pressão osmótica que os fertilizantes determinam quando presentes na solução do solo depende da concentração e da natureza do fertilizante e das características do solo. O índice salino refere-se ao aumento na pressão osmótica produzida por determinado fertilizante em relação à pressão osmótica produzida por igual quantidade em peso de nitrato de sódio (Coelho, 1973).

Os sais do solo provêm da decomposição das rochas que o originam, assim como das águas do subsolo ou de irrigação. Quando a quantidade de sais incorporada ao solo é maior que aquela eliminada por meio da água de drenagem, ocorre um aumento progressivo do nível de salinidade (Summer, 1999). Em regiões onde as chuvas são limitadas, de modo que a perda de água através de drenagem é pequena ou quase nula, compostos originados do próprio solo podem-se acumular na forma de sais solúveis sem resultar no desenvolvimento de solos salinos, até que estes sejam irrigados, a não ser que a água do subsolo possa atingir a superfície, onde acaba sendo evaporada, com conseqüente aumento da concentração salina (Donahue *et al.*, 1977).

O processo de salinização consiste na acumulação excessiva de sais nocivos às culturas na zona de desenvolvimento das raízes. À medida que o solo começa a salinizar, decresce em igual proporção a capacidade produtivas das culturas. As plantas, devido ao aumento da concentração salina, e conseqüentemente, da pressão osmótica, absorvem cada vez

menos água, com evidente prejuízo de suas funções fisiológicas normais. Por outro lado, alguns sais se tornam tóxicos e as plantas chegam mesmo a secar (Wolf, 1999).

A presença desses sais prejudica o crescimento das plantas devido à elevada concentração salina, elevada alcalinidade e proporções desfavoráveis entre os diversos nutrientes. Quando os sais predominantes são o sulfato e os cloretos, as incrustações superficiais do solo apresentam coloração esbranquiçada. Se, por outro lado, há predominância de carbonato de sódio e de potássio, o solo se torna marrom ou escuro (Millar *et al.*, 1965).

Em geral, a salinidade existe em solos de regiões áridas e semi-áridas, embora possam também existir nas úmidas, notadamente quando não contam com boa drenagem.

Embora o acúmulo de sais não seja exclusivo de áreas irrigadas, há maior probabilidade de que a salinidade possa nelas ocorrer, pois, como é evidente, a irrigação é utilizada em regiões de pequena precipitação pluviométrica, sendo as chuvas insuficientes para lavar (lixiviar) o excesso de sais acumulados nas camadas superficiais do solo. A situação é agravada pelo fato de que as plantas, em tais condições, consomem, normalmente, mais água, e pelo fato de que, em tais regiões, a evaporação da água do solo para a atmosfera é elevada (Summer, 1999).

Somente após anos de irrigação é que aparecem depósitos salinos em determinadas áreas. Os sais solúveis, existentes no solo e no subsolo sobem, levados pela água capilar, e se depositam na superfície, após a evaporação da água. Essas concentrações salinas são toleradas pelas plantas quando o teor de água no solo é mantido em um nível ótimo, mas se tornam prejudiciais conforme o conteúdo de água vai diminuindo devido à

evaporação e transpiração que ocorrem entre um e outro período de irrigação. Por isso, é de fundamental importância no manejo desses solos o perfeito conhecimento do momento de irrigar e das quantidades de água a lhe serem adicionadas através da irrigação (Coelho, 1973).

A resolução que rege o órgão de controle das diretrizes referentes à salinização pode ser vista a seguir:

RESOLUÇÃO Nº 5, DE 9 DE OUTUBRO DE 1995

O CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA, no uso das atribuições que lhe são conferidas pela Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981, alterada pela Lei nº 8.028, de 12 de abril de 1990, regulamentadas pelo Decreto nº 99.274, de 06 de junho de 1990, e tendo em vista o disposto em seu Regimento Interno, e

Considerando a necessidade de dinamizar a implementação da Política Nacional do Meio Ambiente, resolve:

Art. 12. À Câmara Técnica de Uso do Solo compete analisar ou elaborar as propostas relacionadas com as diretrizes, programas, normas, critérios e padrões ambientais a serem submetidas ao Plenário do CONAMA, no que se refere a:

- I - Zoneamento ambiental;
- II - Agricultura;
- III - Ocupação e expansão urbana;
- IV - Recuperação do solo;
- V - Erosão, desertificação e salinização.

3.3- MÉTODOS DE ANÁLISES QUÍMICAS

A química analítica é a ciência responsável pela determinação da composição da matéria e desta forma sua teoria e prática são baseadas nas várias áreas da ciência como a física, a biologia, a engenharia, a ciência computacional, etc. (Day, Jr. & Underwood, 1991).

3.3.1- Conceitos gerais

A realização de análises químicas quantitativas deve ser baseada em um protocolo que contém determinados passos a serem seguidos. O

processo inicia-se a partir da seleção do método analítico. Essa seleção deve ser bastante criteriosa considerando-se uma série de questões como: qual o tempo necessário para a realização das análises, qual a quantidade de amostra disponível para se considerar a sensibilidade do método, qual a necessidade de precisão dos resultados, quais componentes poderão causar interferência na análise, quais são as propriedades físicas e químicas da amostra, quantas amostras serão analisadas neste intervalo de tempo e qual a disponibilidade de recursos financeiros (Skoog *et al.*, 1996; Skoog *et al.*, 2002).

Escolhido o método, o passo seguinte refere-se à obtenção de uma amostra bruta representativa do lote a ser estudado. A partir da amostra bruta, deve-se extrair uma amostra laboratorial homogênea que será convertida em uma forma apropriada para análise. Este pode ser realizado através da dissolução da amostra. Entretanto há casos, como amostras com baixa concentração do analito em questão, nos quais faz-se necessário concentrar a amostra antes de ser analisada. Em seguida deve-se eliminar interferências que outras espécies químicas possam causar à análise.

Após a preparação da amostra, inicia-se a análise das concentrações dos analitos. Porém, pode ser conveniente subdividir antes a amostra em várias alíquotas. Este procedimento visa avaliar a variabilidade da análise e desta forma conhecer o erro de medição. Após a medição, tem-se o resultado calculado pelo computador e os dados obtidos devem ser analisados e interpretados de forma coerente pelo pesquisador.

Os critérios de escolha do método analítico adequado às necessidades de análises baseiam-se nas características dos instrumentos analíticos. Um primeiro critério refere-se à *precisão* dos dados que se relaciona à medida do erro aleatório, ou indeterminado de uma análise. As

ferramentas usadas para se determinar a precisão são desvio-padrão, coeficiente de variação e variância. Outro critério conhecido como *tendência* se relaciona à medida do erro sistemático ou determinado da análise. A tendência é definida pela equação:

$$\text{Tendência} = \mu - \chi_v$$

onde μ é a média da população para a concentração de um analito em uma amostra com concentração conhecida igual a χ_v . A determinação da tendência envolve a análise de uma ou mais amostras padrão com concentrações aceitas pela comunidade científica. Os erros sistemáticos podem ser instrumentais, pessoais e metodológicos (Skoog *et al.*, 2002).

A *sensibilidade* de um método refere-se à capacidade de discriminar pequenas diferenças de concentração de uma espécie química. Este critério de eficiência sofre a influência da curva de calibração e da precisão do instrumento analítico. Para dois métodos com a mesma precisão, quanto mais inclinada encontra-se a curva, maior será a sensibilidade do método, assim como, quanto maior for a precisão de um instrumento, maior será sua sensibilidade, considerando-se dois métodos com curvas iguais.

O *limite de detecção* refere-se à concentração mínima do analito que pode ser detectada em um nível conhecido confiável a partir do sinal do branco. A *faixa dinâmica* compreende o intervalo entre as medidas de menor concentração (limite de quantificação) e a concentração na qual as concentrações se afastam da linearidade (limite de resposta linear). A *seletividade* em uma análise química está relacionada ao nível que um determinado método encontra-se livre de interferência de outros elementos na amostra (Skoog *et al.*, 2002).

Quando os instrumentos analíticos necessitam de calibração, um método bastante utilizado refere-se à *curva de calibração* a qual é obtida a partir da introdução de vários padrões com concentrações conhecidas no instrumento analítico juntamente com o branco. Em seguida é realizada uma medição e os resultados são anotados. Na região linear a curva é obtida pela equação:

$$y = m x + b$$

onde, b é o intercepto (o valor de y quando x é zero), m é a inclinação da reta.

3.3.2- Espectrofotometria

A espectrofotometria é um ramo da química analítica que utiliza a luz para medir concentrações químicas. Dessa forma, faz-se necessário o entendimento das propriedades da luz. As ondas luminosas são compostas de campos elétricos e campos magnéticos oscilatórios que são mutuamente perpendiculares. A distância entre cristas de ondas sucessivas é conhecida como comprimento de onda (λ). Outro parâmetro, a frequência, ν (segundo⁻¹; s⁻¹), refere-se ao número de oscilações do campo que ocorrem por segundo. A relação entre frequência e comprimento de onda é:

$$\lambda \nu = c$$

onde, c é a velocidade da luz no vácuo (3×10^8 m/s). (Skoog *et al.*, 2002; Harris, 2001).

A luz pode ser descrita em termos de partículas e ondas. As partículas são chamadas de fótons. Cada fóton é responsável pelo transporte de energia (E) A relação entre frequência e energia é:

$$E = h \nu$$

onde, h é a constante de Planck ($h = 6,626 \times 10^{-34}$ J.s). Relacionando as duas últimas equações:

$$E = h c / \lambda = h c n$$

onde, n é o número de onda ($n = 1/\lambda$). A partir desta equação pode-se dizer que a energia de um fóton é inversamente proporcional ao comprimento de onda ou que é diretamente proporcional ao número de onda. O espectro eletromagnético pode ser visualizado na Figura 1. (Harris, 2001)

Figura 1- Espectro eletromagnético, mostrando os processos moleculares representativos que ocorrem quando a luz é absorvida em cada região. Fonte: Harris, 2001.

O processo de *absorção* de energia está relacionado ao fato de uma molécula absorver um fóton de luz e aumentar sua energia. Pode-se dizer

então, que a molécula passou de um estado de menor energia (estado fundamental) para um estado de maior energia (estado excitado). O processo inverso é chamado de *emissão* de energia. Quando uma molécula absorve luz, ela é promovida a um estado excitado do qual pode retornar ao estado fundamental por processos não-radioativos, por fluorescência ou fosforescência. Assim como a absorção, o processo de emissão luminescente é potencialmente utilizável para a determinação da concentração de uma amostra.

No esquema da Figura 2, pode-se observar que a luz, após passar por um monocromador, atinge a amostra de comprimento b com uma potência P_0 . A potência da luz que sai da amostra é P .

A partir da luz transmitida se calcula a transmitância (T);

$$T = P/P_0$$

A absorbância A é definida:

$$A = \log_{10} (P_0/P) = -\log T$$

Note que, ao contrário da transmitância, a absorbância de um meio cresce quando a atenuação de um feixe aumenta. A lei de Beer diz que para feixes monocromáticos a absorbância é diretamente proporcional ao comprimento do meio b (cm) e à concentração da amostra c (mol/L):

$$A = \epsilon bc$$

onde, ϵ é a absortividade molar ($M^{-1}cm^{-1}$). Vale dizer que esta lei funciona bem para soluções diluídas. Em soluções muito concentradas, as moléculas

do soluto ficam muito próximas, o que causa certas alterações nas propriedades da amostra. Estas alterações podem levar a erros na aplicação da lei de Beer (Skoog *et al.*, 1996; Harris, 2001; Skoog *et al.*, 2002;).

Figura 2- Diagrama esquemático de um processo espectrofotométrico. Fonte: Harris, 2001.

Basicamente, um espectrofotômetro, para amostras líquidas, é composto por uma fonte de radiação, por um monocromador, por uma cubeta contendo a amostra e por um detector.

As fontes de radiação utilizadas na espectrofotometria, normalmente são lâmpadas e lasers. A utilização de determinada fonte de luz está relacionada ao tipo de espectrofotometria em questão. Quando o aparelho usa radiações que vão do visível ao infravermelho próximo, normalmente se utiliza lâmpada de tungstênio. Já no caso da espectrofotometria ultravioleta, utiliza-se lâmpada de arco de deutério. Na faixa do visível-ultravioleta, são também utilizadas as lâmpadas de vapor de mercúrio e gás xenônio. Os lasers são algumas vezes utilizados devido às suas propriedades, pois emitem um feixe monocromático, com alta intensidade, e polarizado, ou seja, as ondas oscilam de forma perpendicular à direção do percurso (Harris, 2001).

A função dos monocromadores é a de promover a dispersão angular da luz em todos seus comprimentos de onda e selecionar a passagem de determinada faixa através da amostra. A dispersão pode ser feita por

prisma, mas normalmente utiliza-se rede. A rede é um componente óptico utilizado nos monocromadores com o intuito de produzir dispersão. A rotação da rede permite que diferentes faixas de comprimentos de onda passem pela fenda de saída do monocromador individualmente. Um filtro pode ser necessário em um monocromador para bloquear determinadas faixas de comprimento de onda que se sobrepõe à série chamada primeira ordem de dispersão.

A radiação que sai do monocromador passa pela cubeta contendo a amostra. Em um espectrofotômetro de feixe simples há apenas uma cubeta. Para a leitura da concentração, inicialmente é colocado a cubeta com solução de referência ou branco. Em seguida é colocada a cubeta com a amostra. Dessa forma, é necessário fazer leituras separadas dos brancos e de cada amostra. Nos espectrofotômetros de feixe duplo esse inconveniente é resolvido, pois o feixe incidente passa alternadamente por duas cubetas, uma de referência e outra com a amostra, através de um divisor de feixe, e os feixes de luz que saem de cada uma são comparados continuamente para se medir a absorbância (Harris, 2001). Figura 3.

Figura 3- Diagrama esquemático de um espectrofotômetro de feixe duplo. Fonte: Harris, 2001.

Os detectores são equipamentos que recebem radiação (fótons) e em contrapartida, produzem sinais elétricos que podem ser interpretados pelo observador.

Alguns cuidados podem ser tomados no intuito de se minimizar os erros na espectrofotometria. As amostras não podem apresentar partículas em suspensão; as cubetas devem estar limpas e colocadas no aparelho de forma correta; de preferência as medidas devem ser feitas no comprimento de onda que apresentar maior absorbância.

3.3.2a- Espectrofotometria de absorção atômica (Descrição do método baseado em: Skoog *et al.*, 1996; Harris, 2001; Skoog *et al.*, 2002).

A espectrofotometria de absorção atômica inicia-se com a introdução, através de aspiração, da amostra no componente atomizador do aparelho. Neste componente, o líquido é evaporado e o sólido restante é atomizado, ou seja, as espécies químicas presentes na amostra são desagregadas até a forma de átomos. Este processo ocorre pela ação de chamas, de fornos ou de plasmas.

Os aparelhos que utilizam a chama possuem um “queimador” de pré-mistura onde a amostra é misturada com um combustível e um elemento oxidante, antes de ser lançada na chama (Figuras 4 e 5). Já o forno de grafite aquecido eletricamente oferece uma sensibilidade maior por proporcionar um tempo de residência mais longo para a amostra (segundos), isto se comparando com a chama (frações de segundos). Outra vantagem do forno é que a quantidade de amostra injetada é menor do que a introduzida na chama. Os “queimadores” de plasma acoplado indutivamente atingem temperaturas muito maiores do que as chamas. Juntamente a isso, possuem maior estabilidade e trabalham em um

ambiente com argônio que é quimicamente inerte. Estas características proporcionam a eliminação da maior parte das interferências que podem ser encontradas nas outras formas de atomização. No “queimador” de plasma, uma bobina de indução de radiofrequência aquece o gás argônio a 6.000-10.000K, onde ocorre a emissão dos átomos e íons excitados (Figura 6). Esta forma de atomização é amplamente usada para espectroscopia de emissão atômica, pois a maioria dos elementos emite energia nestas altas temperaturas. As colisões dos átomos no plasma muito quente promovem suas excitações e na volta ao estado fundamental, liberam fótons espontaneamente.

Figura 4- Diagrama em blocos do espectrômetro de absorção atômica. A chama substitui a cubeta da espectrofotometria convencional. Fonte: Harris, 2001.

Figura 5- Diagrama esquemático de um “queimador” de pré-mistura

Figura 6- Esquema de uma cabeça do “queimador” de um plasma acoplado indutivamente. Fonte: Harris, 2001.

Após o processo de atomização, os átomos na forma de gás são bombardeados com luz proveniente de lâmpadas de cátodo oco. Estas lâmpadas emitem frequências específicas que são absorvidas pelos átomos. Para muitos elementos, existe uma lâmpada específica contendo o elemento que gera o vapor do mesmo elemento que está sendo analisado. A radiação transmitida através da amostra, atinge um monocromador que impede a passagem de comprimentos de ondas provenientes da luz da chama e proporciona a transmissão de determinada faixa de comprimento até o detector. O detector gera sinais elétricos que são aumentados pelo amplificador e a concentração da amostra é lida no dispositivo de leitura.

3.3.3- Cromatografia

A cromatografia foi inventada no início do século 20 pelo botânico Mikhail Tswett que separou os pigmentos de plantas, xantofila e clorofila, através de uma coluna de vidro (Skoog *et al.*, 2002).

Basicamente, a cromatografia é um método que permite separar componentes semelhantes de misturas complexas. Neste processo, os componentes são transportados por uma *fase móvel* (solvente - gás ou líquido), sendo esta forçada através de uma *fase estacionária fixa* (líquido viscoso adsorvido no interior de um tubo capilar oco estreito ou partículas sólidas empacotadas presente na coluna) (MacDonald, 1985; Skoog *et al.*, 2002).

Após a colocação da amostra (ex: substância A e B) na parte superior da coluna, o processo inicia-se com a percolação dos componentes através da coluna pela adição contínua de novos volumes de solvente (eluição) (Figura 7a). Quando a parte inferior da coluna é aberta, os solutos A e B percorrem a coluna através da adição de novos solventes. Se o soluto B é

mais fortemente adsorvido pela fase estacionária do que o A, então o soluto A percorre a coluna mais rapidamente que o soluto B. Dessa forma, o processo cromatográfico promove a separação de componentes presentes em uma mistura. Se na saída da coluna existir um detector, os componentes da amostra poderão ser analisados qualitativa e quantitativamente através de um gráfico em função do tempo (cromatograma) (Figura 7b). Para identificar os componentes da amostra, observa-se as posições dos picos. Já pela análise da altura dos mesmos, pode-se obter as concentrações de cada componente (Collins *et al.*, 1997; Harris, 2001; Skoog *et al.*, 2002).

As velocidades de eluição dos solutos em uma coluna cromatográfica são determinadas pela magnitude das constantes de equilíbrio das reações de distribuição dos solutos entre as fases móvel e estacionária. A constante de equilíbrio K chamada de *constante de partição* pode ser obtida pela equação:

$$K = c_E / c_M$$

onde, c_E é a concentração molar do soluto na fase estacionária e c_M é a sua concentração molar na fase móvel, sendo que ambos se encontram em equilíbrio.

Figura 7- (a) Diagrama mostrando a separação de uma mistura de componentes A e B por eluição cromatográfica em coluna. (b) A saída do sinal do detector em vários estágios da eluição mostrada em (a). Fonte: Skoog, 2002.

Outro parâmetro considerado na velocidade de eluição é o chamado *tempo de retenção* (t_R). O tempo de retenção para cada componente é o tempo necessário após a injeção da amostra na coluna até aquele componente alcançar o detector. Na Figura 8, pode-se observar o tempo de retenção de um analito e o tempo que uma espécie não retida alcança o detector. Esse último é chamado de *tempo morto* (t_M). Há misturas que

apresentam esses componentes que alcançam o detector quase que imediatamente. Dessa forma, pode-se dizer que a velocidade de migração dos componentes não retidos é a mesma das moléculas da fase móvel. O *tempo de retenção ajustado* para um soluto é o tempo necessário para que o mesmo percorra a coluna descontado o tempo morto:

$$t'_R = t_R - t_M$$

Na comparação de dois componentes, a *retenção relativa* (α) é expressa pela equação:

$$\alpha = t'_{R2} / t'_{R1}$$

onde, $t'_{R2} > t'_{R1}$, logo $\alpha > 1$. Pode-se definir a separação como sendo proporcional a α . Quanto maior for a retenção relativa, maior será a separação entre os componentes (Harris, 2001; Skoog *et al.*, 2002).

Figura 8- Desenho esquemático de um cromatograma gasoso mostrando a medição dos tempos de retenção. Fonte: Harris, 2001.

A velocidade média de migração do soluto é definida pela equação:

$$v_m = L / t_R$$

onde, L é o comprimento da fase estacionária da coluna.

Um parâmetro bastante usado para descrever as velocidades de migração dos solutos nas colunas é o *fator de retenção* que é definido:

$$k' = (t_R - t_M) / t_M$$

Dessa forma, quanto maior for o fator de retenção, mais retido pela coluna será o componente. Em outras palavras, o fator de retenção é a razão entre o tempo de permanência do soluto na fase estacionária e o tempo de permanência do soluto na fase móvel. O fator de retenção pode ser escrito também pela equação:

$$k' = C_E V_e / C_M V_m$$

onde, C_E é a concentração do soluto na fase estacionária, V_e é o volume da fase estacionária, C_M é a concentração do soluto na fase móvel e V_m é o volume da fase móvel.

como: $K = c_E / c_M$

então:

$$k' = K V_e / V_m = t_R - t_M / t_M = t'_R - t_M$$

como, $t'_R \propto k' \propto K$:

$$\alpha = t'_{R2} / t'_{R1} = k'_2 / k'_1 = K_2 / K_1$$

ou seja, quanto maior a razão das constantes de distribuição entre as fases estacionárias e móvel, maior será a separação entre os componentes da mistura (Harris, 2001; Skoog *et al.*, 2002).

O parâmetro que relaciona o volume da fase móvel necessário para eluir determinado soluto da coluna é chamado *volume de retenção* (V_r):

$$V_r = t_r u_v$$

onde, u_v é a taxa de fluxo de volume (volume por unidade de tempo) da fase móvel.

O estudo gráfico de picos em um cromatograma ou de bandas de colunas segue a mesma conformação de curvas de erro normais ou gaussianas obtidas em gráficos de valores replicados de uma medida em função da frequência de ocorrência. No cromatograma, quanto mais afastados se encontrarem os picos, maior é a separação dos componentes. Em contrapartida, quanto mais largo for o pico, pior será sua separação, ou seja, quanto mais tempo um soluto passa na coluna, mais larga se torna a banda.

A *resolução* cromatográfica entre dois picos é definida:

$$\text{Resolução} = \Delta t_r / w_{\text{med}} = \Delta V_r / w_{\text{med}}$$

onde, Δt_r ou ΔV_r é a separação entre os picos (em unidades de tempo e volume) e w_{med} é a largura média dos dois picos, sendo que a largura dos picos (w) é medida na linha base entre as tangentes traçadas a partir das partes mais íngremes do pico (Figura 9). Para análises quantitativas resoluções maiores que 1,5 são altamente desejáveis, pois quanto maior a resolução, maior será a separação dos componentes (Harris, 2001).

Figura- 9. Cromatograma gaussiano ideal mostrando como são medidos w e $w_{1/2}$. O valor de w é obtido pela extrapolação das tangentes aos pontos de inflexão até a linha base. Fonte: Harris, 2001.

Uma das principais causas do alargamento da banda que passa através de uma coluna cromatográfica, é a *difusão*. O *coeficiente de difusão* (D) expressa a velocidade de transporte de massa de uma substância, de uma região de maior concentração para uma região de menor concentração. (Harris, 2001).

Uma medida bastante usada para se avaliar a eficiência da coluna é a chamada *altura do prato*. A altura do prato, ou prato teórico, é uma constante de proporcionalidade que relaciona a variância (σ^2) da banda com a distância (x) que ela percorreu:

$$H = \sigma^2 / x$$

Basicamente, a altura do prato relaciona a largura da banda com a distância percorrida pela coluna. Quanto menor a altura do prato, mais estreita é a

banda, ou seja, quanto menor a altura do prato melhor será a separação dos componentes da amostra. Da mesma forma, quanto mais pratos teóricos existirem em uma coluna, maior é sua eficiência. O número de pratos teóricos (N) pode ser calculado a partir da equação:

$$N = L / H$$

onde, L é o comprimento da coluna. Para o uso prático utiliza-se a seguinte equação para se determinar o número de pratos:

$$N = 16 t_R'^2 / w^2 = 5,55 t_R'^2 / w_{1/2}^2$$

onde, $w_{1/2}$ é a largura a meia-altura da base do pico e os números 16 e 5,55 são dados fixos calculados.

A altura do prato pode ser determinada pela equação de *van Deemter*:

$$H = A + B / u_x + C u_x$$

onde, u_x é a taxa de fluxo linear e A , B , e C são constantes para uma dada coluna e fase estacionária. A componente B / u_x relaciona-se à difusão longitudinal da banda ao longo do eixo da coluna. A componente $C u_x$ é proveniente do limite de tempo necessário para o soluto estar em equilíbrio entre as fases móvel e estacionária (tempo de equilíbrio) (Harris, 2001; Skoog *et al.*, 2002).

Ao final do processo cromatográfico as análises químicas podem ser concluídas por abordagens qualitativas e quantitativas. A análise das concentrações dos componentes da amostra normalmente é realizada baseada nas áreas dos picos. As áreas constituem uma variável analítica satisfatória. Os instrumentos cromatográficos atuais apresentam

integradores eletrônicos digitais que realizam o cálculo preciso das áreas dos picos (Skoog *et al.*, 2002).

Para que as análises quantitativas mencionadas acima se realizem, é necessária a utilização de métodos de calibração e padronização. O método mais direto baseia-se na preparação de várias soluções-padrão que apresentem composições semelhantes às da amostra. A partir da obtenção do cromatograma, as áreas dos picos são lançadas em um gráfico em função da concentração. Outro método caracteriza-se pela introdução de uma substância medida, que funciona como um padrão interno, em cada padrão e na amostra. O resultado da razão entre as áreas dos picos dos componentes da amostra e do padrão interno permite a determinação das concentrações de interesse. No método da normalização da área, após a eluição de todos os componentes, a concentração é medida através da razão de cada área com a área total de todos os picos (Skoog *et al.*, 2002).

3.3.3a- Cromatografia por troca iônica (Descrição do método baseado em: Skoog *et al.*, 1996; Collins *et al.*, 1997; Harris, 2001; Skoog *et al.*, 2002).

Na cromatografia de troca iônica, os íons presentes no soluto são retidos na coluna através da atração com os sítios carregados ligados à fase estacionária (Figura 10). Nas colunas com trocadores de ânions, os grupos carregados positivamente presentes na fase estacionária, atraem os ânions presentes no soluto. De forma inversa, nas colunas com trocadores de cátions, os cátions do soluto são atraídos pelos sítios carregados negativamente da fase estacionária.

Figura 10- Cromatografia de troca iônica. Fonte: Harris, 2001.

Os trocadores de íons são formados de resinas de matéria orgânica. As resinas de poliestireno são bastante utilizadas para troca iônica. Sua formação ocorre pela polimerização do estireno com o divinilbenzeno. O teor de divinilbenzeno varia de 1 a 16%. Isto significa que quanto maior a porcentagem, maior é a quantidade de entrecruzamento (ligação cruzada) entre os componentes da resina. Com o aumento do entrecruzamento, a resina torna-se mais rígida e menos porosa diminuindo o inchamento com água, e aumentando a capacidade trocadora e a seletividade. Em contrapartida, apresentam um maior tempo para que o soluto entre em equilíbrio entre o interior e exterior da partícula. Os anéis de benzeno destas resinas podem ser modificados para produzir resinas trocadoras de ânions (adição de grupo amônio -NR_3^+) ou resinas trocadoras de cátions (adição de grupo sulfonado -SO_3^-). A seletividade das resinas tende a aumentar com um maior número de entrecruzamentos devido ao fato de

gerar uma diminuição no tamanho dos poros. Dessa forma, íons com grandes raios hidratados tem menos acesso à resina do que íons menores. A Tabela 5 mostra alguns coeficientes de seletividade de resinas de troca iônica. Resumidamente, a seletividade da resina pelos íons aumenta pela maior carga, pelo menor raio e pela maior polarizabilidade dos íons. Entende-se por polarizabilidade a capacidade de deformação da nuvem eletrônica de um íon pelas cargas próximas a ele.

Tabela 5- Coeficientes de seletividade de resinas de troca iônica. Fonte: Harris, 2001.

I Coeficientes relativos de seletividade de resinas de troca iônica					
Câtion	Resina trocadora de cátion de ácido sulfônico			Resina trocadora de ânion de amônio quaternário	
	Teor de divinilbenzeno (%)			Ânion	Seletividade relativa
	4	8	10		
Li ⁺	1,00	1,00	1,00	F ⁻	0,09
H ⁺	1,30	1,36	1,45	OH ⁻	0,09
Na ⁺	1,49	1,88	2,23	Cl ⁻	1,0
NH ₄ ⁺	1,75	2,22	3,07	Br ⁻	2,8
K ⁺	2,09	2,63	4,15	NO ₃ ⁻	3,8
Rb ⁺	2,22	2,89	4,19	I ⁻	8,7
Cs ⁺	2,37	2,91	4,15	ClO ₄ ⁻	10,0
Ag ⁺	4,00	7,36	19,4		
Tl ⁺	5,20	9,66	22,2		

Fonte: *Amberlite Ion Exchange Resins... Laboratory Guide* (Rohm & Haas Co., 1979).

3.3.3b- Cromatografia iônica (Descrição do método baseado em: Skoog *et al.*, 1996; Harris, 2001; Skoog *et al.*, 2002).

A grande utilização da cromatografia por troca iônica na análise quantitativa de espécies químicas inorgânicas foi afetada pela falta de precisão nos métodos de detecção. Os detectores mais indicados são os que medem a condutividade. Entretanto, a precisão dos resultados é restringida pela necessidade de se usar altas concentrações de eletrólitos para eluir as espécies iônicas presentes nas amostras. Dessa forma, a condutividade dos componentes da fase móvel pode interferir na análise dos íons da amostra.

Com o advento da *cromatografia iônica de íon suprimido*, o problema acima descrito foi resolvido. A diferença deste método é que foi introduzida, após a coluna separadora de íons, uma coluna supressora do eluente. Essa coluna é composta por outra resina trocadora que transforma os componentes do eluente em espécies químicas de baixa ionização, sem afetar os íons da amostra. Um exemplo que mostra tanto a cromatografia aniônica de íon suprimido como a cromatografia de cátion suprimido pode ser observada na Figura 11. Após um tempo curto de utilização (8 a 10 horas) as colunas supressoras devem ser recuperadas para retornarem a forma original ácida ou básica.

Atualmente foram desenvolvidas novas formas de supressores formados por membranas fibrosas que eliminam a necessidade de recuperação, ou seja, podem ser utilizadas continuamente (Figura 12). Para o exemplo de eliminação de sódio do eluente, inicia-se um fluxo ácido regenerador na corrente supressora. Na membrana, os íons sódio são trocados por íons de hidrogênio preexistentes e então migram através da membrana ocorrendo no eluente a seguinte reação: $H^+ + OH^- \rightarrow H_2O$ não iônica. Esse método é comprovadamente eficiente e rápido.

Figura 11- Esquema ilustrativo de (a) cromatografia aniônica de íons suprimido e (b) cromatografia catiônica de íons suprimido. Fonte: Harris, 2001.

Figura 12- Representação esquemática de um supressor de micromembrana. Fonte: Skoog, 2002.

A firma Dionex lançou nos últimos anos uma coluna supressora de regeneração contínua. Consiste de duto muito fino, com o efluente da coluna fluindo em seu interior onde se dá a supressão dos íons não desejados do eluente. A regeneração se dá continuamente pelo lado externo onde age um fluxo de solução regeneradora.

3.3.4- Eletroforese capilar (Descrição do método baseado em: Kuhn & Hoffstetter-Kuhn, 1993; Li, 1993; Harris, 2001; Skoog *et al.*, 2002).

O termo eletroforese refere-se à migração dos íons presentes em uma solução através da influência de um campo elétrico. Um aparelho de eletroforese capilar típico é formado por um tubo capilar de sílica fundida com 50cm de comprimento e diâmetro interno de 25 a 75 μ m. Os componentes de uma solução são puxados e separados, através do capilar, em direção ao detector, devido à aplicação de uma tensão de aproximadamente 30 kV (quilovolts). Os solutos presentes na solução possuem mobilidades diferentes e dessa forma migram com velocidades diferentes (Figura 13). Devido à ação de um campo elétrico os grupos catiônicos são atraídos para o cátodo do aparelho e os grupos aniônicos são atraídos para o ânodo que se localiza na extremidade oposta. A parede interna de sílica forma uma dupla camada elétrica. A camada ligada à parede é fixa e negativa e dessa forma adsorve fortemente os cátions presentes que neutralizam em grande parte a carga negativa. Na outra camada (camada difusa), o excesso de cátions livres produz um fluxo eletroosmótico em direção ao cátodo (Figura 14).

Neste sistema, os íons apresentam *mobilidades aparentes*. A mobilidade aparente de um íon é a soma da *mobilidade eletroforética* com a *mobilidade eletroosmótica* deste íon. A mobilidade eletroforética é uma

constante de proporcionalidade entre a velocidade do íon e a força do campo elétrico, sendo proporcional à carga do íon e inversamente proporcional ao coeficiente de atrito do íon com o meio. A mobilidade eletroosmótica é uma constante de proporcionalidade entre a velocidade da osmose elétrica e o campo aplicado, sendo proporcional à densidade de cargas da superfície na sílica e inversamente proporcional à raiz quadrada da força iônica.

Figura 13- Aparelhagem de eletroforese capilar. Uma forma de se injetar a amostra é colocar o capilar em um frasco e aplicar pressão no frasco ou sucção na saída do capilar. Fonte: Harris, 2001.

A coluna capilar promove uma melhor resolução se comparada com as colunas cromatográficas iônicas. Com a utilização da coluna capilar tem-se uma redução na altura dos pratos e um aumento no número de pratos produzidos pela eliminação do termo múltiplo A e do termo de

transferência de massa $C u_x$ presentes na equação de van Deemter. A eliminação dos termos é devido ao fato de não haver fase estacionária na eletroforese capilar.

Figura 14- (a) Camada elétrica dupla criada pela sílica carregada negativamente e pelos cátions próximos. (b) A quantidade predominante de cátions na parte difusa da camada dupla produz um fluxo osmótico elétrico global em direção ao cátodo quando é aplicado um campo externo. Fonte: Harris, 2001.

3.4- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DOS MÉTODOS DE ANÁLISE DE NUTRIENTES EM HIDROPONIA

O presente tópico relaciona-se à revisão de diversos trabalhos científicos, os quais descrevem experimentos de análise de nutrientes em plantas desenvolvidas em sistemas hidropônicos. Na Tabela 6 pode-se visualizar de uma forma resumida estes trabalhos onde discrimina-se os

métodos de análises, os nutrientes analisados e os locais de medição nas respectivas plantas estudadas ou nas soluções nutritivas.

Zekki *et al.*, 1996, produziram plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) em sistemas hidropônicos com substrato e NFT, onde realizou-se às análises, por espectrofotometria colorimétrica e de plasma acoplado indutivamente, dos nutrientes presentes tanto na solução nutritiva quanto nos tecidos das plantas. Saravitz *et al.*, 1994, obtiveram as concentrações de nitrato presentes na solução nutritiva de plantas de soja (*Glycine max* L.) através da cromatografia de íons. As concentrações de nutrientes presentes nos tecidos de plantas de alface foram analisadas, por Huett, 1994, através de métodos de espectrofotometria colorimétrica e de absorção atômica. O método de cromatografia de íons foi utilizado por Rideout *et al.*, 1994, para analisar as concentrações de nitrato presentes em tecidos de plantas de soja (*Glycine max*). Premuzic *et al.*, 1998 obtiveram as concentrações de Ca e Fe por espectrofotometria de absorção atômica e de K por espectrofotometria de emissão de chama, de frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum*). As concentrações de nutrientes presentes nas soluções nutritivas de plantas de inhame, foram obtidas, no trabalho de Hill *et al.*, 1998, através de análises de espectrofotometria de plasma e de cromatografia líquida de alta pressão. Eymar *et al.*, 2001 realizaram análises químicas de espectrofotometria colorimétrica na determinação de P, de espectrofotometria de absorção atômica na determinação de Ca e Mg e de espectrofotometria de emissão atômica na determinação de K, encontradas em tecidos de coníferas (*Cupressus glabra*) desenvolvidas em sistema hidropônico de substrato. As concentrações de nutrientes presentes nos tecidos de alface (*Lactuca sativa* L.) foram obtidas, no trabalho de

Michaska & Asp, 2001, através do método de espectrofotometria de plasma acoplado indutivamente.

Tabela 6. Revisão bibliográfica de trabalhos realizados em sistema hidropônicos utilizando métodos de análise química de nutrientes

LOCAL DE MEDIÇÃO	MÉTODO DE ANÁLISE	NUTRIENTES ANALISADOS	AUTOR/ANO
Solução nutritiva e tecidos de plantas - Tomate	Espectrofotometria colorimetria	NO ₃ ⁻	Zekki <i>et al.</i> , 1996
	Espectrofotometria de plasma acoplado indutivamente	P, K, Ca, Mg, S, Cu,	
		Fe, Mn, Zn, B e Mo	
Solução nutritiva - Soja	Cromatografia de íon	NO ₃ ⁻	Saravitz <i>et al.</i> , 1994
Tecidos de plantas - Alface	Espectrofotometria colorimetria (azul fosfo-molibdico)	P	Huett, 1994
	Espectrofotometria de absorção atômica	K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn	
Tecido de plantas - Soja	Cromatografia de íon	NO ₃ ⁻	Rideout <i>et al.</i> , 1994
Frutos de tomate	Espectrofotometria de absorção atômica	Ca e Fe	Premuzic <i>et al.</i> , 1998
	Espectrofotometria de emissão de chama	K	
Tecido de plantas - Inhame solução nutritiva	Espectrofotometria de plasma acoplado indutivamente	Ca, Mg, K, P, Mn, Zn, Cu, Fe, Na	Hill <i>et al.</i> , 1998
	Cromatografia líquida de alta pressão	Cl	
Tecidos de plantas - Coníferas	Espectrofotometria colorimetria (azul fosfo-molibdico)	P	Eymar <i>et al.</i> , 2001
	Espectrofotometria de absorção atômica	Ca e Mg	
	Espectrofotometria de emissão de chama	K	
Tecidos de plantas - Alface	Espectrofotometria de plasma acoplado indutivamente	K, Ca, Mg, P, S, Mn, Zn, Cu, Cd, Pb	Michaska e Asp, 2001

4- MÉTODOS PROPOSTOS PARA ANÁLISE DE NUTRIENTES PRESENTES EM SOLUÇÕES HIDROPÔNICAS

Os elementos nutrientes essenciais, absorvidos normalmente pelas raízes, são encontrados na forma de ânions, como NO_3 , PO_4 , SO_4 , etc., ou cátions como NH_4 , K, Cu, etc. As concentrações usadas são expressas em mg do elemento por litro de solução (ppm) ou em μg do elemento por litro de solução (ppb), e variam de acordo com o elemento e também segundo o sistema de cultivo adotado.

A análise dos nutrientes presentes nas plantas pode basear-se no seguinte procedimento: Determinar em balança de precisão, o peso fresco das partes de interesse das plantas. Posteriormente, cada uma das estruturas é secada em estufa de circulação forçada à 60°C por 24 horas. Após este período, é determinado, em balança de precisão, o peso seco. O procedimento seguinte consiste na trituração, em micromoinho, das plantas pesadas anteriormente, e na digestão, em solução nitroperclórica, das mesmas. Como resultado da digestão, obtém-se uma solução nutritiva que pode ser analisada, em laboratório, conforme os métodos descritos em seguida.

As análises da solução nutritiva podem ser de forma direta após a coleta no campo. O procedimento inicial que pode ser realizado no laboratório consiste em uma filtração de todas as amostras com filtros Whatman 40 ou similar. Este passo é realizado com o intuito de se retirar a matéria orgânica em suspensão da solução. As análises químicas das soluções filtradas podem ser realizadas por diversos métodos. A seguir

serão descritas técnicas de análise para cada elemento considerado em hidroponia.

As análises químicas das soluções filtradas propostas pelo presente trabalho são:

» Íons cloreto e sulfato podem ser analisados por turbidimetria (turbidímetro de bancada). Neste método a concentração dos íons é obtida a partir de um feixe de luz que detecta a quantidade de turbidez na solução provocada pelo analito previamente precipitado:

- SULFATO – (Golterman, 1969) A adição de cloreto de bário, em excesso, provoca a formação do muito pouco solúvel sulfato de bário BaSO_4 . Adição de glicerol-etanol estabiliza o tamanho dos cristais no precipitado. A turbidez provocada pelo precipitado é determinada em turbidímetro, onde a concentração do íon sulfato é obtida por meio de gráfico de calibração previamente preparado.
- CLORETO – Em virtude das concentrações altas de cloreto usadas em hidroponia é possível fazer sua determinação também por turbidimetria. Ao adicionar excesso de nitrato de prata se forma o pouco solúvel cloreto de prata. A partir da turbidez resultante, utilizando-se o turbidímetro, pode-se determinar a concentração de cloreto, usando gráfico de calibração previamente preparado.

» Em princípio são adequados para as análises dos demais íons, os métodos espectrofotométricos. Quando esses são executados, é produzido um composto colorido a partir da espécie química a ser determinada, com subsequente quantificação espectrofotométrica ou

colorimétrica (como descrito, por ex. em J. Fries, “SPURENANALYSE” (análise de traços), Merck, Darmstadt, 1971; ou H.L. Golterman, Methods for chemical analysis of fresh waters, Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh.

» Espectrofotometria colorimétrica:

- NITRATO - Na análise do nitrato (Mackereth *et al.*, 1978) o íon NO_3 é primeiro reduzido a nitrito através de contato com cádmio granulado cuja superfície foi amalgamada. O nitrito resultante é colocado para reagir, em seguida, com sulfanilamida diazotando-a e produzindo um sal de diazônio. Este então se acopla com N(1-naftil) etilenodiamina produzindo corante azóico estável e de forte coloração rósea. A absorbância da solução medida em 530 nm é proporcional à concentração do nitrato originalmente presente. O método tem limite inferior de detecção de 1 ppb em N, sendo assim apropriado para as concentrações na faixa de ppm usadas em hidroponia.
- FOSFATO - O fósforo contido na solução como ortofosfato pode ser determinado pelo método do azul fosfo-molibdico (Mackereth *et al.*, 1978): o íon fosfato, em solução ácida, reage com molibdato formando ácido fosfo-molibdico e este é reduzido com ácido ascórbico formando o complexo azul fosfomolibdico intensamente colorido. A absorbância da solução determinada em 880 nm é uma medida da concentração do fosfato originalmente presente. O limite inferior de detecção é de 10 ppb em P.
- AMÔNIO – Através do método do azul indo-fenol, em solução moderadamente alcalina, o radical amônia reage com hipoclorito

formando monocloramina, que na presença de fenol forma o azul de indofenol. A absorvância é medida, no espectrofotômetro, em 630 nm.

- MOLIBDÊNIO – (Fries, 1971) O molibdênio, presente como molibdato, forma um complexo colorido com a fenilfluorona. Este complexo é fotometrado em 510 nm.
- BORO – (Fries, 1971) O boro forma um complexo com 1-1'diantrimida que pode ser fotometrado em 620 nm.

» Espectrofotometria de absorção e emissão atômica:

Para a análise por espectrofotometria de absorção atômica, normalmente, efetua-se a concentração dos íons na solução. Esta concentração pode ser realizada, se necessário, através de colunas compostas de resinas catiônicas ou aniônicas. Nas colunas catiônicas, os cátions da solução se ligam a grupos sulfônicos ou carboxílicos fixos. Após este aprisionamento, a coluna é lavada com pequeno volume de ácido clorídrico diluído, provocando a liberação dos cátions na solução final, de volume menor que a original. Ao contrário, nas colunas aniônicas, os ânions da solução se ligam a grupamentos aminas e a coluna é lavada com solução alcalina.

Os procedimentos das análises espectrofotométricas por absorção atômica do cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês e zinco baseiam-se na obtenção das concentrações a partir da utilização de lâmpadas de cátodo específicas para cada elemento. Com relação aos elementos sódio e potássio, as análises podem ser realizadas no mesmo espectrofotômetro de absorção atômica, com a diferença de que o aparelho será ajustado para o modo de emissão. Neste procedimento, a luz com determinado

comprimento de onda, é emitida pelo próprio elemento que passa diretamente pela chama.

Os métodos propostos acima, para as análises dos nutrientes de soluções hidropônicas, foram escolhidos, principalmente, em função de que os espectrofotômetros são aparelhos bastantes conhecidos e facilmente encontrados em diversos laboratórios de análises, além de apresentarem resultados confiáveis e com custos moderados.

5- CONCLUSÕES E SUGESTÕES FUTURAS

A grande competitividade comercial na produção de alimentos no mundo atual gera uma concorrência que leva à necessidade de produção de alimentos com maior qualidade e com alta produtividade. No mundo moderno, esses objetivos somente serão atingidos com o desenvolvimento de novas tecnologias de produção. Baseado neste panorama, o cultivo hidropônico de plantas mostra-se completamente inserido, demonstrando ser capaz de acompanhar as evoluções cada vez mais exigentes dos mercados consumidores.

A hidroponia pode ser considerada um avanço na busca desses objetivos em comparação com as técnicas tradicionais, pois proporcionam, além de uma maior qualidade dos produtos e uma maior produtividade, uma redução no consumo de água, fertilizantes, mão-de-obra, e conseqüentemente dos custos de produção. Considerando apenas a redução no consumo de água e de fertilizantes, pode-se notar a grande contribuição da hidroponia para o meio ambiente. Sabe-se que a água será no lugar do petróleo, a grande *commodity* deste século devido a iminente escassez de água potável. Desta, a irrigação dos cultivos em solo utiliza em torno de 45%, o que demonstra um grande desperdício de água. Da mesma forma, as reservas naturais de nutrientes encontram-se em condições preocupantes. Sabe-se que as reservas de fosfato e de potássio, no ritmo de consumo atual, poderão durar aproximadamente mais 150 e 200 anos respectivamente. Já as de zinco e cobre encontram-se em situação mais preocupante, podendo durar em torno de 60 anos.

A partir dessas informações pode-se notar que a utilização do cultivo hidropônico é mais vantajoso para o meio ambiente do que os cultivos em solo. Entretanto, dependendo da forma de manejo da solução nutritiva, a

hidroponia pode ocasionar diversos danos para o meio ambiente. Muitos produtores utilizam-se do expediente de trocar completamente a solução periodicamente o que, além de provocar desperdícios, causa efeitos de salinização e contaminação do solo. Partindo-se do princípio de redução de danos ambientais e de custos, alguns produtores realizam o manejo da solução pela adição de sais de forma proporcional ao volume de água consumido pelas plantas de baseando-se por valores de evapotranspiração. No entanto, esta prática gera graves problemas tanto pela concentração de nutrientes absorvidos em menor quantidade, como pela deficiência dos nutrientes absorvidos em maior quantidade. Dessa forma, atualmente, os processos de manejo da solução nutritiva se baseiam principalmente no monitoramento da solução nutritiva utilizando-se condutivímetro portátil, ou seja, controlando a concentração salina total. Entretanto, a leitura fornecida pelo condutivímetro não discrimina os nutrientes individualmente, podendo assim causar desequilíbrios nutricionais. Certamente, a melhor forma de evitar tais problemas seria a realização de análises químicas periódicas, em laboratórios especializados, pois assim, seria possível repor à solução nutritiva a quantidade exata de nutrientes absorvidos pelas plantas. No entanto, esta prática poderia tornar-se inviável tanto pela necessidade de resultados rápidos, como de baixos custos.

As análises químicas dos nutrientes nesses laboratórios, normalmente são realizadas utilizando-se os métodos revistos no presente trabalho. Os métodos de espectrofotometria são ainda muito utilizados, pois além de serem amplamente difundidos em vários laboratórios, produzem resultados confiáveis. Entretanto, a utilização dos métodos de cromatografia vem crescendo rapidamente nos últimos anos devido à popularização da cromatografia iônica, o que gerou uma redução nos custos de análise.

Somado a isso, em condições favoráveis, bastam apenas duas análises de cátions e ânions para se determinar as concentrações dos componentes de interesse. Em outras palavras, em um único cromatograma pode-se analisar todos os cátion e ânions simultaneamente.

Baseado nestes métodos, futuros estudos podem ser realizados visando a utilização de um terceiro processo de manejo da solução. Este processo seria caracterizado pela adição seletiva de cada nutriente de acordo com a diminuição de sua concentração na solução. Para isso, seria necessário que fossem realizadas análises químicas confiáveis no campo de todos os componentes da solução. Segundo Furlani *et al.*, 1999, vários esforços estão sendo realizados, atualmente, para o desenvolvimento de sensores íons-seletivos que seriam capazes de gerar resultados confiáveis das concentrações individuais dos nutrientes. Os métodos descritos no presente trabalho seriam de grande utilidade, como base de comparação de resultados, para estes futuros estudos. O êxito destes trabalhos significaria uma redução, tanto no consumo de nutrientes, como nos fatores causadores de impacto ambiental.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAAR, B. (1992). Water works. *Grower*. May: 15-16.

BERNARDES, L. J. L. (1997). *Hidroponia: Alface; Uma História de Sucesso*. Charqueada: Estação Experimental de Hidroponia “Alface e Cia”.

BLISKA JÚNIOR, A.; ARAUJO, J. A. C.; ZOCCAL, J. C.; SCOTTI, C. A.; LIMA, J. A.; SILVA, M. L. J. (1998). *Dimensionamento do Projeto Hidropônico*. Brasília: LK Editora & Comunicação Ltda.

BOIVIN, C. (1990). La recirculation de la solution nutritive en culture sur laine de roche, p. 76-80. In: Cahier des conférences. 9^o Journée d’information sur les cultures abritées.

CASTELLANE, P. D.; ARAUJO, J. A. C. (1995). *Cultivo sem Solo: Hidroponia*. Jaboticabal: FUNEP.

COELHO, F. S. (1973). *Fertilidade do solo*. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (1997). *Introdução a métodos cromatográficos*. Campinas: Editora da UNICAMP.

DAY, R.A. Jr.; Underwood, A. L. (1991). *Quantitative analysis*. New Jersey: Prentice-Hall.

DONAHUE, R.L.; MILLER, R.W.; SHICKLUNA, J.C. (1977). *An introduction to soils and plant growth*. New Jersey: Prentice-Hall.

DOUGLAS, J. S. (1987). *Hidroponia: Cultura sem terra*. São Paulo: Nobel.

EYMAR, E.; CADAHÍA, C.; SÁNCHEZ, A. (2001). Foliar nutrient reference levels obtained in hydroponic cultures as preliminary norms for dris to fertigate conifers. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.*, 32 (1&2), p. 267–282.

FRIES, J. *Spurenanalyse (análise de traços)*. (1971). Merck, Darmstadt.

FURLANI, P. R. (1995). *Cultivo de Alface pela Técnica de Hidroponia : NFT*. Campinas: Instituto Agrônômico (IAC).

FURLANI, P. R.; SILVEIRA, L. C. P.; BOLONHEZI, D.; FAQUIN, V. (1999). *Cultivo Hidropônico de Plantas*. Campinas: Instituto Agrônômico (IAC).

GOLTERMAN, H. L. (1969). *Methods for chemical analysis of fresh waters*. Oxford and Edingurgh: Blackwell Scientifica Publications.

HARRIS, D. C. (2001). *Análise química quantitativa*. Rio de Janeiro: LTC.

- HILL, S.; ABAIDOO R.; MIYASAKA, S. (1998). Sodium chloride concentration affects early growth and nutrient accumulation in taro. *HortScience*, 33(7), p. 1153-1156.
- HUETT, D. O. (1994). Growth, nutrient uptake and tipburn severity of hydroponic lettuce in response to electrical conductivity and K : Ca ratio in solution. *Aust. J. Agric. Res.*, 45, p. 251- 267.
- HUETT, D. O. (1994). Production and quality of sim carnations grown hydroponically in rockwool substrate with nutrient solution containing different levels of calcium, potassium and ammonium-nitrogen. *Aust. J. Agric. Res.*, 34, p. 691- 697.
- KUHN, R.; HOFFSTETTER-KUHN, S. (1993). *Capillary Electrophoresis: Principles and Practice*. Printed in Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- LI, S. F. Y. (1993). *Capillary electrophoresis: principles, practice and applications*. Printed in The Netherlands: Elsevier Science B.V.
- MACDONALD, J. C. (1985). *Inorganic Chromatographic Analysis*. United States of America: John Wiley & Sons, Inc.
- MACKERETH, F. J. H; HERON, J. & TALLING, J. F. (1978). Water analysis. *Freshwater Biological Association*. Scientific Publication. No. 36.

MARTINEZ, H. E. P.; ARAUJO, J. A. C.; SCOTTI, C. A.; BLISKA, JÚNIOR, A.; MEYER, A. R. K.; SILVA, M. L. J. (1999). *Solução Nutritiva para Hidroponia: Cálculo, Preparo e Manejo*. Brasília: SENAR.

MARTINEZ, H. E. P.; SILVA FILHO, J. B. (2004). *Introdução ao Cultivo Hidropônico de Plantas*. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV.

MICHALSKA, M.; ASP, H. (2001). Influence of lead and cadmium on growth, heavy metal uptake, and nutrient concentration of three lettuce cultivars grown in hydroponic culture. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.*, 32 (3&4), p. 571 – 583.

MILLAR, C.E.; TURK, L.M.; FOTH, H.D. (1965). *Fundamentals of soil science*. Tokyo: Toppan Printing Company.

MONDIN, M. (1996). Tese: *Efeito de sistemas de cultivo na produtividade e acúmulo de nitrato em cultivares de alface*. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Jaboticabal.

PREMUZIC, Z.; BARGIELA, M.; GARCIA, A. ; RENDINA, A.; IORIO, A. (1998). Calcium, iron, potassium, phosphorus, and vitamin c content of organic and hydroponic tomatoes. *HortScience*, 33(2), p. 255-257.

REEDY, K.S.; MILLS, H. A. (1991). Interspecific responses of marigold to manganese as influenced by nitrogen source. *HortScience*, 26(10), p. 1281 – 1282.

RESH, H. M. (1992). *Cultivos Hidroponicos: Nuevas Técnicas de Producción*. Madri: Ediciones Mundi-Prensa.

RIDEOUT, J.W.; CHAILLOU, S.; JR, C. D. R.; MOROT-GAUDRY, J. F. (1994). Ammonium and nitrate uptake by soybean during recovery from nitrogen deprivation. *Journal of Experimental botany*, 45(270), p. 23-33.

SARAVITZ, C. H.; CHAILLOU, S.; MUSSET, J.; JR, C. D. R.; MOROT-GAUDRY, J. F. (1994). Influence of nitrate on uptake of ammonium by nitrogen – depleted soybean: is the effect located in root or shoots. *Journal of Experimental botany*, 45(280), p. 1575-1584.

SISTRUNK, L. A. & STOREY, J. B. (1987). A proven laboratory nutrition experiment utilizing hydroponic cucumbers. *HortScience*, (22).

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. (2002). *Princípios de Análise Instrumental*. Porto Alegre: Bookman.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. (1996). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Orlando: Saunders Collage Publishing.

SUMMER, M.E. (1999). *Handbook of soil science*. Boca Raton: CRC Press.

WOLF, B. (1999). *The fertile triangle: the interrelationship of air, water, and nutrients in maximizing soil productivity*. New York: Haworth Press.

ZEKKI, H.; GAUTHIER, L.; GOSSELIN, A. (1996). Growth, productivity, and mineral composition of hydroponically cultivated greenhouse tomatoes, with or without nutrient solution recycling. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121(16), p. 1082-1088.