UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS – IQSC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ANALÍTICA

REUSO DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA SUCROALCOOLEIRA: IMPACTO NA QUALIDADE DO SOLO E NOVOS MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO UTILIZANDO LIBS.

ALFREDO AUGUSTO PEREIRA XAVIER

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientadora: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori

São Carlos
2019

Este trabalho é dedicado a meus pais Alfredo e Vera Lourdes. Agradeço pela educação, amor, carinho e apoio que deram a mim ao longo dessa encarnação. Obrigado pelo ensinamento do caminho da honestidade e persistência.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus
... por mais uma encarnação, por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir em frente, permitindo a superação dos obstáculos para a conclusão desta etapa da minha vida profissional.

Aos meus familiares, especialmente minha irmã Mainara, minhas avós Lourdes (*in memorian*) e Lázara.
... pela compreensão, força, incentivo, carinho e educação.

À minha namorada Ana Elisa (Fofa)
... pelo amor, carinho, paciência, conselhos, companheirismo e apoio tanto nos momentos bons quanto nos momentos ruins e de incertezas. Eu te amo.

À Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori da Embrapa Instrumentação
... pela confiança, orientação, oportunidade, incentivo, amizade e todo o ensinamento fornecido.

Aos Drs. Ladislau Martin Neto e Paulino Ribeiro Villas Boas
... pelas instruções, sugestões e auxílio que contribuíram para o meu crescimento acadêmico.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Corá e aos alunos de seu grupo
... pela disponibilidade dos resíduos de cana-de-açúcar e pelo suporte e apoio ao projeto desenvolvido.

Aos colegas do Laboratório de Óptica e Fotônica, Aida, Anne, Amanda, Anielle, Alex, Carla, Carol, Gustavo, Kleydson, Luís, Jonas, Manuel, Mayara, Mariana Gobato, Mariane Chagas, Renata e Willy
... pelo auxílio, amizade e convivência.

Aos meus amigos André Peret, Alisson Carvalho, Gustavo Campos, Gregory, Ivan, Marcos Lorevice, Renan Romano, Ricardo Menezes, Thiago Ribeiro, Vagner e Yves
... pelas horas e horas de conversa, amizade e estima.

A Lislaine Prando
... por horas e horas de conversa.

Aos funcionários da Embrapa Instrumentação em especial a Silviane Zanin e Alice Raabe
... pelo auxílio nas medidas e infraestrutura fornecida para a realização desse trabalho.

Aos professores do IQSC/USP
... pela transferência de conhecimento.

Às bibliotecárias do IQSC/USP
... pela atenção e pronto atendimento.

À Andréia, Dani, Gislei e o Gustavo da sessão de pós-graduação do IQSC/USP
... pela simpatia, atenção e pelo excelente atendimento.

À CAPES
... pelo auxílio financeiro concedido.

Aos funcionários da Unimed de São Carlos, seja UTI, ambulatório, 24hs, pronto atendimento em especial a Dra. Fabiana Darezzo
...que me socorreram durante tantas situações de risco cardíaco nesses últimos anos.

A todos os médicos, enfermeiros e funcionários do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia em especial ao Dr. Mario Issa
... por contribuírem para que eu continuasse minha jornada encarnado.

Aos professores da banca
... pela disposição em examinar e contribuir para este trabalho.

Muito obrigado a todos

“Se tiver que amar, ame hoje. Se tiver que sorrir, sorria hoje. Se tiver que chorar, chore hoje. Pois o importante é viver hoje. O ontem já foi e o amanhã talvez não venha.”

André Luiz (Chico Xavier)

RESUMO

No processamento de cana-de-açúcar há grande geração de subprodutos, tais como a vinhaça, a torta de filtro (TF) e as cinzas de bagaço de cana-de-açúcar (CBCA). Atualmente a TF e CBCA estão sendo destinados à biofertilização do solo, porém sem nenhum tipo de normatização. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação desses subprodutos como biofertilizantes em termos de quantidade de nutrientes e estabilidade da matéria orgânica do solo (MOS) através de um experimento de incubação de 12 meses (divididos em 10 tempos pontuais de coleta). Foram utilizados 6 tratamentos (+ a testemunha (D)), numa dose proporcional a 40 Mg ha^{-1} aplicados em vasos a um Latossolo Vermelho Eutrófico sendo eles: TF fresca (TF), TF compostada (TC), CBCA fresca (CF), CBCA compostada (CC) e duas misturas desses subprodutos compostados juntos, sendo Composto A – 50% TF e 50% CBCA (CA) e Composto B – 75% TF e 25% CBCA (CB). Utilizou-se a Análise Elementar (CHN/S) para as determinações de carbono (C) e nitrogênio (N). Metais como Fe, Mg, Mn, Zn e K foram determinados por espectroscopia de absorção atômica no modo chama (FAAS). O índice de humificação (H_{FIL}) da MOS foi avaliado utilizando a espectroscopia de fluorescência induzida por laser (LIFS). Paralelamente ao estudo nutricional do solo, desenvolveu-se métodos para caracterizá-lo utilizando a espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) a partir dos dados obtidos por CHNS/S e FAAS. Os resultados mostraram que os teores médios de C para todos os tratamentos permaneceram na faixa de 1,0 a 1,2%, não havendo diferença estatística significativa entre os tempos de incubação ao longo do experimento exceto para TF, que apresentou decaimento exponencial, variando de 1,8% a 1,16%. Através da extrapolação do decaimento pode-se notar a possibilidade da ocorrência do efeito *priming* negativo a partir de 720 dias. Os índices H_{FIL} para todos os tratamentos não apresentaram diferença estatística significativa, porém para TF houve um aumento exponencial ao longo do experimento. A compostagem mista (CA e CB) se mostrou interessante, pois acelera o processo de maturação de TF e mantém até 0,6% de N e K (proveniente de TF e CF respectivamente) disponível nos compostos finais. Para LIBS, os modelos univariados para quantificação de K mostraram ajuste considerável, porém, para C não foi possível a quantificação. Os resultados tiveram boa melhora quando se trabalhou com modelos multivariados, com coeficiente de correlação de 0,83 para K e 0,73 para C e erro médio de predição de ~10% dos valores de referência. Por fim, a regressão múltipla linear para a quantificação de C apresentou correlação de 98% e erro médio de predição de 10%, contornando assim a alta interferência espectral e os efeitos de matriz, aliado a medidas rápidas, baratas e limpas. Os altos teores de C lábil em TF enfatizaram a importância dos estudos sobre a dinâmica da MOS, realçando a necessidade do

gerenciamento correto dos subprodutos e necessidade de criar portarias para sua aplicação como biofertilizantes sem que haja dano ao solo, tal como a salinização.

Palavras-chave: Torta de Filtro; Cinza de bagaço de cana-de-açúcar; FIL; índice de humificação; técnicas fotônicas; Processamento de cana-de-açúcar.

Byproduts Reuse from the sugarcane industry: Impact on soil quality and new characterization methods using LIBS

ABSTRACT

Sugarcane processing generates large amount of byproducts such as vinasse, filter cake (FC) and sugarcane bagasse ash (SCBA). The FC and SCBA are being destined for soil biofertilization, but without any standardization. This study aimed to evaluate the application of byproducts as biofertilizers in terms of nutrient quantity and stability of soil organic material (MOS) through a 12 month incubation experiment. Six treatments (+ the control treatment (D)) were applied, at a proportional dose of 40 Mg ha^{-1} to a Oxisol: fresh FC (TF), composite FC (TC), fresh SCBA (CF), Composted SCBA (CC) and two mixtures of by-products composted together, Compound A - 50% FC and 50% SCBA (CA) and Compound B - 75% FC and 25% SCBA (CB). The Elemental Analysis (CHN/S) was used for carbon (C) and nitrogen (N) determinations. Metals such as Fe, Mg, Mn, Zn and K were determined by Flame Atomic Absorption Spectroscopy (FAAS). Humification Index (H_{LIFS}) was used using Laser Induced Fluorescence Spectroscopy (LIFS). Parallel to the soil nutritional study, methods to characterization were developed using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) from data obtained by CHNS/S and FAAS. The results showed that the C average for all treatments remained in the range of 1.0 to 1.2%, with no statistically significant difference between incubation times throughout the experiment except for TF, which showed exponential decay, varying from 1.8% to 1.16%. Through the delay extrapolation, it was note the possibility that the negative priming effect occurred from 720 days. The H_{LIFS} index for all treatments showed no statistically significant difference, but for TF there was an exponential increase throughout the experiment. The mixed composting (CA and CB) was interesting alternative because it accelerates the process of TF maturation and keeps up to 0,6% N and K contents (from TF and CF respectively) available in the final compounds. For LIBS, univariate models for K quantification showed considerable adjustment, but for C it was not possible to quantify. The results had a considerable improvement when working with multivariate models, with correlation coefficient of 0.83 for K and 0.73 for C and mean prediction error of ~10% of the reference values. Finally, the linear multiple regression for the quantification of C showed a correlation of 98% and a mean prediction error of 10%, thus avoiding the high spectral interference and matrix effects, combined with fast, cheap and clean measurements. The high levels of labile C in TF emphasized the importance of studies on the dynamics of MOS,

emphasizing the need for the correct management of bio-residues and the need to create ordinances for their application as biofertilizers without damage to the soil.

Keywords: Filter cake; Sugar-cane bagasse ash; LIFS; humification index; photonics techniques; Sugarcane processing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução da produção de álcool anidro, hidratado e total. 19
Figura 2 - Evolução da área, produtividade e produção de cana-de-açúcar. 20
Figura 3 - Principais subprodutos/resíduos da indústria sucroalcooleira, a) vinhaça; b) CBCA e c) TF. 21
Figura 4 - Fluxograma das principais etapas da produção de álcool e açúcar 22
Figura 5 - Biofertilização com subprodutos da cadeia produtiva de cana-de-açúcar. a) Vinhaça; b) CBCA; c) TF e d) Efeito da aplicação de TF. 24
Figura 6 - Os pilares da sustentabilidade 26
Figura 7 - Controle da temperatura durante a compostagem 29
Figura 8 - Valores orientadores de compostos inorgânicos para solos - CETESB 32
Figura 9 - Diagrama de transição eletrônica de fluorescência molecular 35
Figura 10 – Diagrama de componentes de um equipamento de FAAS 37
Figura 11 – Queimador de 50 mm utilizado na FAAS 37
Figura 12 - Esquema temporal usado em LIBS-DP 41
Figura 13 - Representação esquemática de um sistema LIBS-DP. 41
Figura 14 - Configurações experimentais de LIBS-DP onde: a) Colinear; b) ortogonal reaquecimento; c) ortogonal pre-ablação; d)feixe cruzado 42
Figura 15 – Curva de calibração genérica 44
Figura 16 – Relação Sinal/Ruído em um espectro LIBS típico de solos 48
Figura 17 - Experimento de incubação temporal 49
Figura 18 - Esquema do experimento 52
Figura 19 - a) Fechamento das cápsulas; b) Cápsulas sendo inserida no carrossel do analisador elementar. 55
Figura 20 - Sistema de LIFS portátil com excitação em 405 nm: 1) chave de energia laser; 2) caixa de controle laser; 3) cabo óptico; 4) sonda 56
Figura 21 - Esquema do equipamento LIFS portátil. 56
Figura 22 - Análise por LIFS 57
Figura 23 - Tubo de ensaio utilizado para a digestão da amostra 58
Figura 24 - Espectros típico de LIBS DP para solos 60
Figura 25 - Teores de C e N médios para os diferentes subprodutos *in natura.* 63
Figura 26 – Teores de C médio ao longo do tempo para a) todos os tratamentos; b) TF 65

Figura 27 – Decaimento exponencial dos teores de C para TF: a) Dados experimentais; b) Extrapolação da curva ajustada. 67
Figura 28 - Teor de C médio ao longo de todo o experimento, considerando os 10 tempos de incubação 68
Figura 29 - Espectro de LIFS típico para amostras de solos, com excitação em 405 nm. 70
Figura 30 - H_{FIL} médio para os diferentes tratamentos ao decorrer do tempo..... 70
Figura 31 - H_{FIL} médio ao longo do experimento..... 72
Figura 32 - Concentração média de metais nos tratamentos em estudo nas amostras dos tempos T0, T1, T6 e T9..... 79
Figura 33 – Evolução dos teores de C e H_{FIL} para o tratamento TF..... 82
Figura 34 - Pico 589,6 nm em diferentes tempos de entre pulsos 83
Figura 35 - Informações sobre as linhas de K do banco de dados NIST..... 84
Figura 36 - Picos de potássio..... 84
Figura 37 - Correlação entre as informações das linhas 766,49 e 769,88 nm; a) Intensidades e b) área dos picos. 85
Figura 38 - Histograma das concentrações de K (mg/kg) das amostras a serem utilizadas nos modelos..... 86
Figura 39 - Modelos de calibração para K utilizando a) Intensidade; b) Área e c) Largura do pico (FHWM) 87
Figura 40 - Gráfico de correlação (R) da região dos picos de potássio..... 89
Figura 41 - Integrais parciais do pico 89
Figura 42 - Curvas de calibração para potássio utilizando as integrais parciais da linha 766,49 nm obtidas para; a) pontos os espectrais, b) Fit Lorentziano. 90
Figura 43 – Histograma dos subprodutos; a) pontos os espectrais, b) Fit Lorentziano..... 92
Figura 44 - Gráfico de distruição dos subprodutos da curva de calibração; a) pontos os espectrais, b) Fit Lorentziano. 93
Figura 45- Curvas de validação dos modelos para quantificação de K utilizando LIBS utilizando: a) pontos os espectrais, b) Fit Lorentziano. 94
Figura 46 – Gráficos de saída do modelo utilizando PLS para a região de 760 a 772 nm. a) utilizando 12 PCs e a curva de calibração; b) utilizando 7 PCs; c) espectro médio e os *loadings* de cada PC e d) modelos de calibração e validação. 97
Figura 47 - Informações sobre a região espectral da linha de C do banco de dados NIST 99
Figura 48 - Picos de carbono: a) 193,03 nm e b) 247,85 nm 100

Figura 49 - Gráfico de correlação (R) entre a região do pico e os valores de referência de a) Carbono e b) Ferro.....101
Figura 50 – Histograma dos teores de C (%) das amostras a serem utilizadas nos modelos .102
Figura 51 - Modelos de calibração para C utilizando a) Intensidade; b) Área e c) Largura do pico (FHWM) 103
Figura 52 - Gráficos de saída do modelo utilizando PLS para a região espectral de 247 a 248,5 nm. a) variância explicada em função 12 PCs; b) variância explicada em função 8 PCs; c) espectro médio na região dos picos e os os *loadings* de cada PC avaliada e d) o modelo de calibração e as amostras preditas pelo modelo. 105
Figura 53 - Correlação entre as intensidades das linhas 247,85 nm (C I + Fe II) e 193,03 nm (C I + Al I). 108
Figura 54 - Informações sobre as linhas de Fe do banco de dados NIST.....109
Figura 55 - Correlação entre as intensidades das linhas a) 247,85 nm (C I + Fe II) e 247,07 nm (Fe II) e b) 247,07 nm (Fe II) e o teor de C (%). 109
Figura 56 - Modelo planar em três dimensões utilizando todas as 84 amostras. 111
Figura 57 - Curvas de validação dos modelos para quantificação de C utilizando LIBS 113
Figura 58 – Demonstração gráfica da determinação do ângulo φ entre o plano π e o eixo (Z) das concentrações.....114
Figura 59 – Representação gráfica para o cálculo de LOD e LOQ. 116

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Esquema experimental temporal 51
Tabela 2 - Estimativa entre os valores práticos e teóricos para T0. 69
Tabela 3 - Curvas de calibração para determinações via FAAS 73
Tabela 4 - LOD e LOQ das curvas de calibração para os elementos quantificados 74
Tabela 5 - Concentração dos elementos nos subprodutos (mg/L) 75
Tabela 6 - Desvios padrões relativos dos valores da Tabela 5 76
Tabela 7 - Concentração de metais nos subprodutos (mg/kg) 77
Tabela 8 - Curvas de calibração para os elementos quantificados nas amostras de solo 78
Tabela 9 - Equações das curvas de calibração obtidas para potássio 91
Tabela 10 – Coeficientes angulares e desvios do modelo planar em 3D construído bem como os coeficientes de correlação (R) e determinação (R^2). 111
Tabela 11 - Coeficientes angulares e desvios das três equações planares dos modelos 3D, bem como os coeficientes de correlação e determinação R e R^2. 113
Tabela 12 – Comparativo entre os modelos univariado e multivariado para potássio 117
Tabela 13 - Comparativo entre os modelos univariado e multivariado para carbono 118

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Atomic absorption spectroscopy
ANOVA	Análise de variância
C	Carbono
CA	Composto A
CB	Composto B
CBCA	Cinzas de bagaço de cana-de-açúcar
CF	Cinzas de bagaço de cana-de-açúcar fresca
CC	Cinzas de bagaço de cana-de-açúcar compostada
CCD	Charge-Coupled Device
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CHN/S	Análise elementar (Carbono; Hidrogênio; Nitrogênio e Enxofre)
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
EMAR	Erro médio absoluto relativo
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAAS	Flame atomic absorbtion spectroscopy
GEE	Gases de efeito estufa
ha	Hectare
H_{FIL}	Índice de humificação
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry
IHSS	International Humic Substance Society
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change
Laser	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
LIBS	Laser induced breakdown spectroscopy
LIBS-DP	Laser induced breakdown spectroscopy – Double Pulsed
LIFS	Laser induced fluorescence spectroscopy
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
MAD	Median absolute deviation
MCG	Mudanças climáticas globais
MLR	Multiple Linear Regression
MO	Matéria orgânica
MOS	Matéria orgânica do solo
Mt	Megatonelada

NASA	National Aeronautics and Space Administration
NIST	National Institute of Standards and Technology
ns	Nanossegundos
R	Coeficiente de correlação de Pearson
R^2	Coeficiente de determinação
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMSE	Root Mean Square Error
RMSEC	Root Mean Square Error Calibration
RMSEP	Root Mean Square Error Prediction
RPE	Ressonância paramagnética eletrônica
SAM	Spectral Angle Mapper
TOC	Total organic carbono
t	Tonelada
TC	Torta de filtro compostada
TF	Torta de filtro fresca
TCH	Toneladas de cana por hectare
µg	Microgramas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 ..... *19*

INTRODUÇÃO *19*

1.1 – Histórico e evolução dos combustíveis *19*

1.2 – A produção de álcool e as questões ambientais. *21*

1.3 – Objetivos *24*

1.3.1 – Objetivos específicos 24

CAPÍTULO 2 ..... *26*

REVISÃO BLIBLIOGRÁFICA *26*

2.1 – Utilização de subprodutos orgânicos e a sustentabilidade *26*

2.1.1 – Biofertilizantes de cana-de-açúcar 27

2.1.2 – Compostagem 28

2.2 – Matéria orgânica do Solo (MOS) *30*

2.3 – Caracterização elementar em solos *31*

2.3.1 – Novas técnicas para determinação elementar em solos 33

2.4 – Conceitos gerais sobre as técnicas utilizadas *34*

2.4.1 – Análise Elementar (CHN/S) 34

2.4.2 – Luminescência 34

2.4.2.1 – Espectroscopia de fluorescência induzida por laser (LIFS) 35

2.4.3 - Espectrometria De Absorção Atômica (AAS) 36

2.4.4 – Espectroscopia de Emissão em Plasma Induzido por Laser (LIBS). 38

2.4.4.1 – LIBS – Duplo pulso 40

2.4.4.2 - Modelos de calibração 43

2.4.4.3 – Calibração univariada 44

2.4.4.4 – Calibração multivariada 44

2.4.4.5 – Limite de detecção e Limite de quantificação 46

CAPÍTULO 3 ..... *49*

MATERIAIS E MÉTODOS *49*

3.1 – Delineamento experimental *50*

3.1.1 – Dose de aplicação 52

3.1.2 – Cálculo da umidade da incubação 53

3.1.3 – Montagem do experimento ... 53

3.2 – Preparo das amostras ... *54*

3.3 – Análises ... *54*

3.3.1 – Análise elementar ... 55

3.3.2 – Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (LIFS) ... 55

3.3.3 – Espectrometria de Absorção Atômica no Modo Chama (FAAS) ... 57

3.3.4 – Espectroscopia de Emissão em Plasma Induzido por Laser (LIBS). ... 59

3.3.4.1 - Pré-tratamentos espectrais ... 60

3.4 - Análise estatística ... *61*

CAPÍTULO 4 ... *63*

RESULTADOS E DICUSSÕES ... *63*

4.1 – Avaliação dos subprodutos como subprodutos ... *63*

4.1.1 – Análise elementar ... 63

4.1.1.1 – Subprodutos ... 63

4.1.1.2 – Amostras de solo incubado ... 64

4.1.1.3 – Estimativas entre os valores teóricos e valores práticos ... 69

4.1.2 – Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (LIFS) ... 69

4.1.3 – Espectrometria de Absorção Atômica no Modo Chama (FAAS) ... 73

4.1.3.1 – Subprodutos ... 73

4.1.3.2 – Amostras de solo incubado ... 78

4.1.4 – Considerações parciais sobre o uso de subprodutos ... 81

4.2 – Desenvolvimento de modelos para quantificação elementar utilizando LIBS ... *83*

4.2.1 – Potássio (K) ... 84

4.2.1.1 – Modelos univariados ... 84

4.2.1.2 – Modelos multivariados ... 96

4.2.2 – Carbono (C) ... 99

4.2.2.1 – Modelos univariados ... 99

4.2.2.2 – Modelos multivariados ... 104

4.2.2.3 – Modelo em 3 dimensões ... 107

4.2.2.3.1 – Calibração ... 107

4.2.2.3.2 – Validação ... 113

4.2.2.3.3 – Cálculo dos LOD e LOQ do modelo 3D ... 114

4.2.3 – Considerações parciais sobre os modelos criados ... 117

4.2.3.1 – Potássio ... 117

4.2.3.2 – Carbono ... 118

CAPÍTULO 5 ..... *120*

CONCLUSÕES *120*

5.1 – Reflexões finais *122*

CAPÍTULO 6 ..... *123*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *123*

ANEXOS *133*

A - PUBLICAÇÕES *133*

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

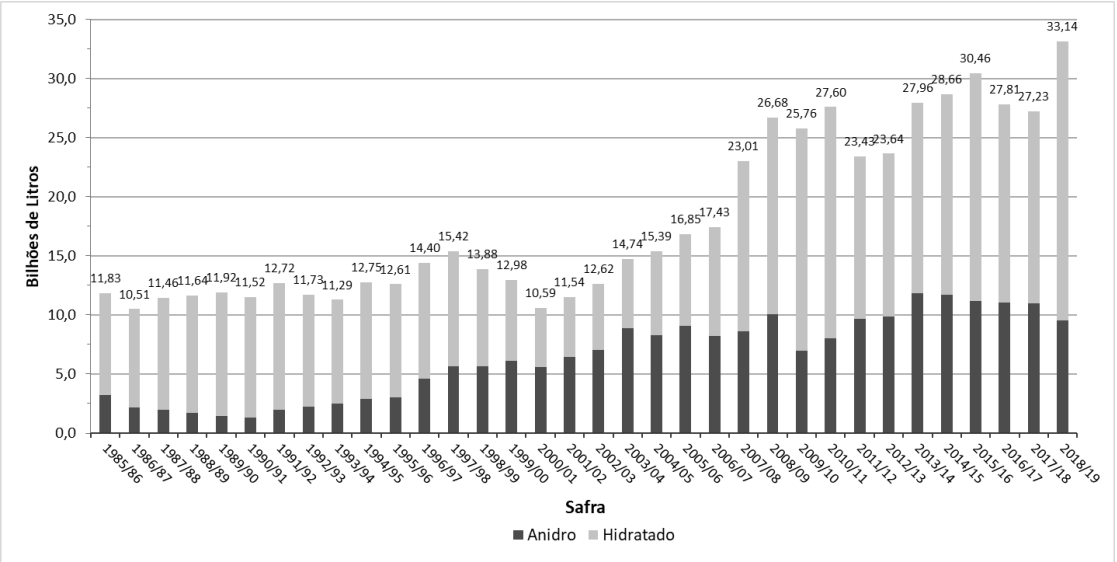
1.1 – Histórico e evolução dos combustíveis

Desde sua descoberta, no final do século XIX, o petróleo foi consumido pelo mundo de forma abundante e indispensável para o sustento da vida moderna, ganhando o codinome de "ouro-negro". Porém, na década de 70, com a notícia de que o petróleo seria uma fonte de energia não renovável, deu-se início à busca incessante por combustíveis alternativos. Por conta dessa revelação, conflitos pela posse do petróleo se tornaram frequentes, fazendo com que seu preço tivesse aumentos absurdos na época, chegando a 300% em relação ao preço anterior (DE FREITAS e KANEKO, 2011b). A partir dos novos patamares de preços, das necessidades de crescimento econômico e desenvolvimento industrial, o Brasil adotou o etanol de cana-de-açúcar como combustível alternativo ao petróleo.

O cultivo da cana-de-açúcar no Brasil iniciou-se logo após a descoberta do país, com mudas trazidas por Martin Afonso de Souza as quais foram plantadas em São Vicente-SP. Favorecida pela fácil adaptação ao clima e ao solo tropical, a cana-de-açúcar destacou-se entre as plantas cultivadas e é utilizada na produção de recursos energéticos para o homem (açúcar e etanol) e animal (ração, matéria fresca) (FARAH, 2013).

Aliada ao crescimento da tecnologia automobilística flex e com advento do programa Pró-álcool em 1975, a produção de álcool no Brasil se expandiu vertiginosamente, a qual superou o total de 33 bilhões de litros na última safra (Figura 1).

Figura 1 - Evolução da produção de álcool anidro, hidratado e total.



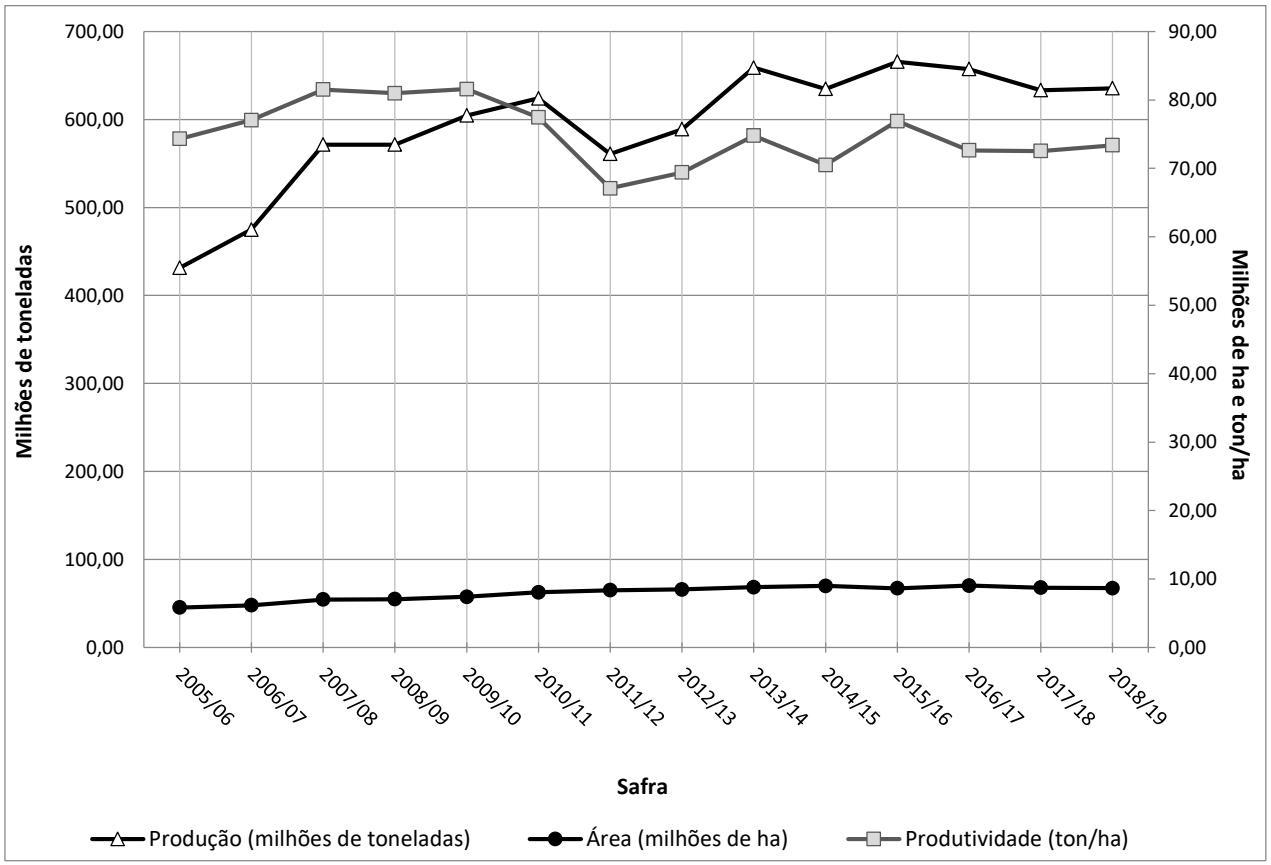
Fonte: CONAB, 2017, adpatado

Sendo assim, o Brasil ocupa o segundo lugar como maior produtor de álcool do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos, o qual alimenta seu mercado com álcool de milho (KAMIMURA e SAUER, 2008; DE FREITAS e KANEKO, 2011a).

Para suprir o consumo desse combustível alternativo, as 3 últimas safras de cana-de-açúcar vêm apresentando valores médios de produção de 656 milhões de toneladas (t), sendo a produtividade de 74,5 t/ha numa área de 8,7 milhões de hectares (ha) dos quais 4,5 milhões de ha estão localizados no estado de São Paulo, sendo o maior produtor de cana-de-açúcar do país (CONAB, 2017).

Os dados dos rendimentos da cultura de cana-de-açúcar no Brasil entre as safras de 2005/06 até a safra 2018 são mostrados na Figura 2 abaixo.

Figura 2 - Evolução da área, produtividade e produção de cana-de-açúcar.



Fonte: Autoria própria

As grandes vantagens da cana-de-açúcar sobre o petróleo como combustível são a de ser uma fonte de energia renovável, além de ser menos poluente ao meio ambiente. Estudos da Embrapa Agrobiologia mostram que o etanol reduz aproximadamente 73% das emissões de CO_2 para a atmosfera. Para determinação desses valores, foram avaliadas e quantificadas as

emissões de CO_2 de todo o processo de produção, desde a preparação do solo para o plantio da cana até o transporte do etanol produzido para o posto. Foram avaliadas, inclusive, as emissões de gases na fabricação e aplicação de fertilizantes no campo, na construção da usina de álcool e na fabricação de máquinas e tratores. O mesmo foi feito com a gasolina, com a emissão dos gases desde a extração do petróleo até a combustão do produto nos motores dos veículos (EMBRAPA, 2009).

Logo, o Brasil vem investindo fortemente em pesquisas voltadas às tecnologias sucroalcooleiras visando a maior produção, incluindo maiores rendimentos, melhor qualidade, menores custos e a produção sustentável.

1.2 – A produção de álcool e as questões ambientais.

A produção de álcool e açúcar gera resíduos ou subprodutos tais como a vinhaça, torta de filtro (TF), cinzas de bagaço de cana-de-açúcar (CBCA), fuligem e águas residuárias, e com o aumento considerável da produção sucroalcooleira, veio também o aumento considerável de resíduos. Na Figura 3, são mostrados os principais subprodutos.

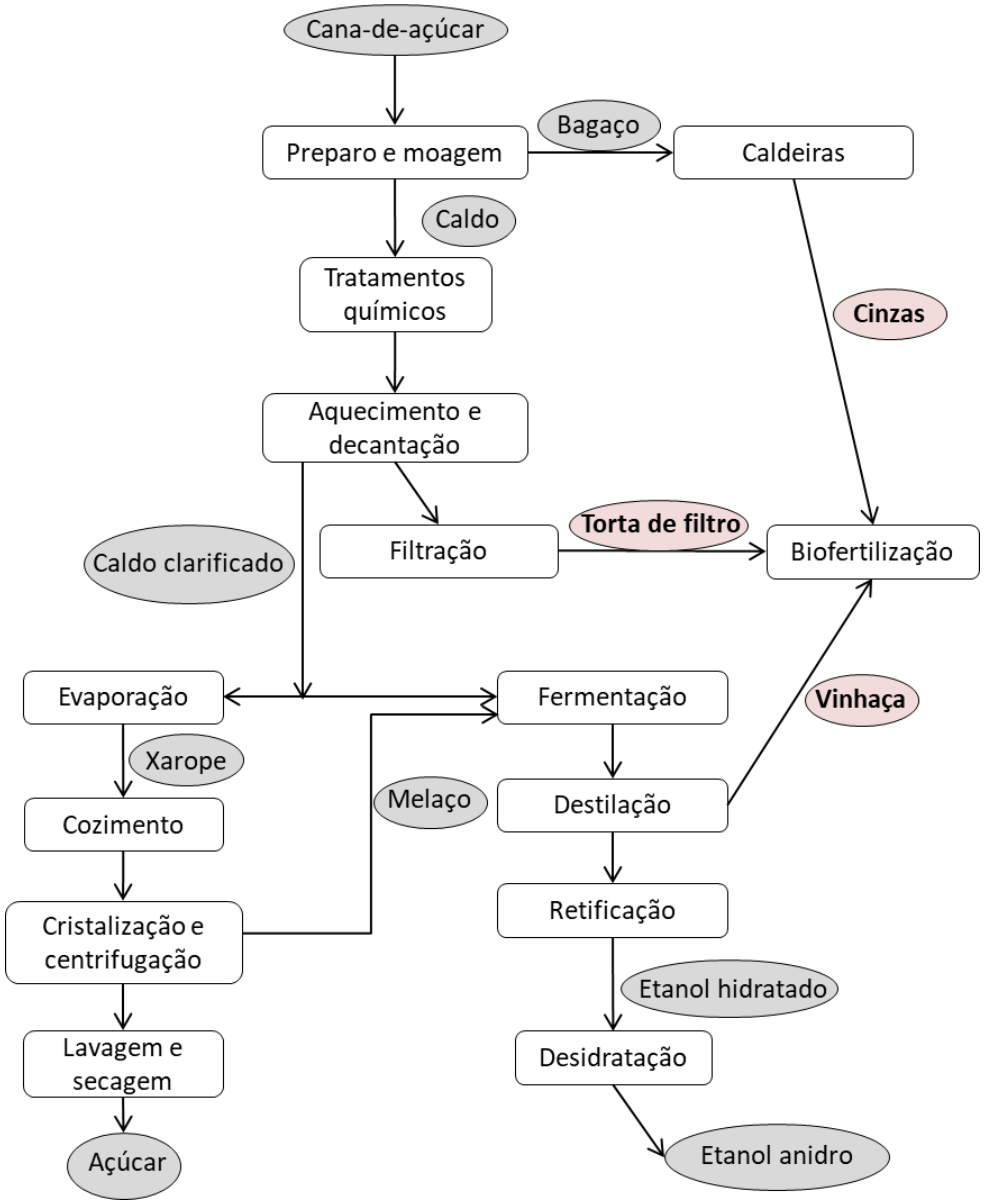
Figura 3 - Principais subprodutos/resíduos da indústria sucroalcooleira, a) vinhaça; b) CBCA e c) TF.

Fonte: (ROSSETTO e SANTIAGO, 2012)

As CBCA são produzidas pela queima do bagaço da cana para alimentação do fogo das caldeiras onde o mosto (mistura do caldo e do melaço) é fermentado. Já a TF é fruto da etapa de clarificação do caldo obtido da moenda (FIRME, 2005; FIRME, VILLANUEVA *et al.*, 2014).

Na Figura 4 é mostrado um fluxograma resumido onde são mostradas as principais etapas da produção de álcool e açúcar, bem como os principais produtos gerados em cada etapa. Nos tratamentos químicos estão inclusos sulfitação e calagem (SEABRA, 2008).

Figura 4 - Fluxograma das principais etapas da produção de álcool e açúcar



Fonte: Autoria própria

No processamento de uma tonelada de cana-de-açúcar são gerados em torno 250 kg de bagaço (50% umidade), os quais são reaproveitados para a cogeração de energia nas caldeiras, gerando 560.000 kcal e 25 kg de CBCA. A quantidade de calor e energia que é gerada por essa combustão pode atender parte ou integralmente a demanda de energia do processo de produção de açúcar e álcool. Logo, junto com a palha, o bagaço fornece energia na forma de bioeletricidade, evitando assim a utilização de combustíveis fósseis (OCHOA GEORGE, ERAS *et al.*, 2010).

Para a mesma quantidade de cana-de-açúcar são gerados aproximadamente 50 kg de TF. Uma tonelada de cana-de-açúcar também produz 70L de etanol (os quais fornecem 392.000 kcal) e 15L de vinhaça por litro de álcool gerado (CORTEZ, MAGALHAES *et al.*, 1992; ROMERO, 2007; OCHOA GEORGE, ERAS *et al.*, 2010; MAKUL e SUA-IAM, 2016).

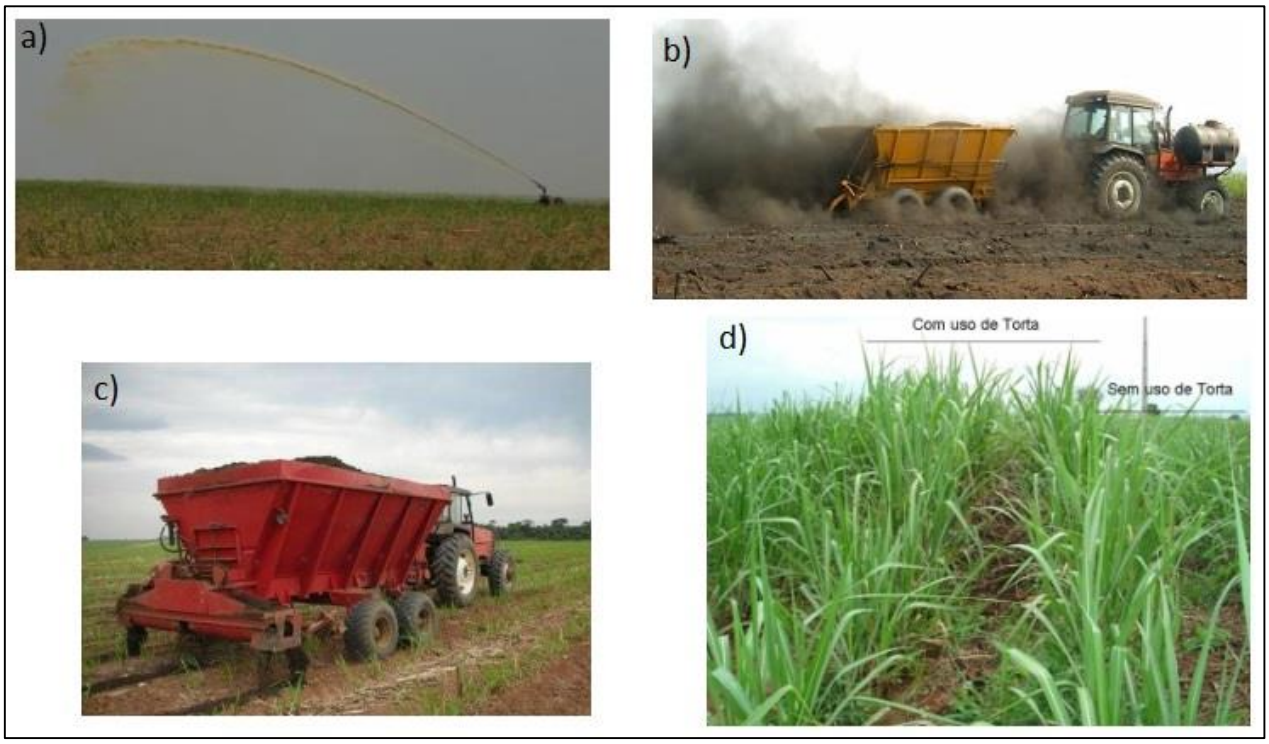
A vinhaça, também é conhecida como vinhoto ou vinhote é um subproduto da fabricação do álcool e açúcar e foi motivo de preocupação para os profissionais da área do meio ambiente quanto à sua destinação final, pelo alto grau impactante quando descartada indevidamente (JUNQUEIRA, MOLINA JUNIOR *et al.*, 2009; ROSSETTO e SANTIAGO, 2012).

A princípio, nas primeiras décadas de produção de álcool, a vinhaça era despejada *in natura* em corpos d'água sem o menor controle. Nos dias de hoje no Brasil, a vinhaça é utilizada para a fertirrigação, normatizada pelas portarias n° 323, de 29 de novembro de 1978, e n° 158, de 03 de novembro de 1980 do extinto Ministério do Interior (DÖLL e FORESTI, 2010).

Em 2006, a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) criou a Norma Técnica P4.231 com o objetivo de estabelecer os critérios e procedimentos para o armazenamento, transporte e aplicação da vinhaça em solo agrícola (JUNQUEIRA, MOLINA JUNIOR *et al.*, 2009).

Porém, ao contrário da vinhaça, o uso da CBCA e TF como biofertilizantes não é regulamentado por um órgão fiscalizador como a CETESB. Esses subprodutos vêm sendo utilizadas com fins de biofertilização (Figura 5) (ADORNA, CRUSCIOL *et al.*, 2013).

Figura 5 - Biofertilização com subprodutos da cadeia produtiva de cana-de-açúcar. a) Vinhaça; b) CBCA; c) TF e d) Efeito da aplicação de TF.



Fonte: (ROSSETTO e SANTIAGO, 2012).

1.3 – Objetivos

O presente trabalhou visou a avaliação dos efeitos causados pela aplicação desses subprodutos a um único tipo de solo em um experimento de incubação miniaturizado, tomando como hipótese inicial o potencial dos mesmos como biofertilizantes sem prejuízos ao solo, tal como a salinização. O efeito da compostagem prévia dos subprodutos também foi estudado bem como as consequências dessa prática na aplicação ao solo.

O estudo compreendeu não apenas avaliação quantitativamente através da determinação dos teores elementares do solo advindos dessa aplicação, mas também qualitativamente, ou seja, a evolução da estabilidade da MOS durante o período experimental.

Além disso, este trabalho também teve como objetivo avaliar o potencial da técnica LIBS para o desenvolvimento de métodos “limpos” para a quantificação de elementos químicos presentes nas amostras de solo incubado.

1.3.1 – Objetivos específicos

- Caracterização dos subprodutos *in natura* utilizados no experimento de incubação afim de se estimar a aporte de nutrientes ao solo através da aplicação.

- Determinar o grau de humificação da matéria orgânica do solo (MOS) utilizando a espectroscopia de fluorescência induzida por laser (*Laser Induced Fluorescence Spectroscopy*, LIFS).

- Desenvolver métodos matemáticos para quantificação elementar dos solos utilizando a espectroscopia de emissão em plasma induzido por laser (*Laser Induced Breakdown Spectroscopy*, LIBS).

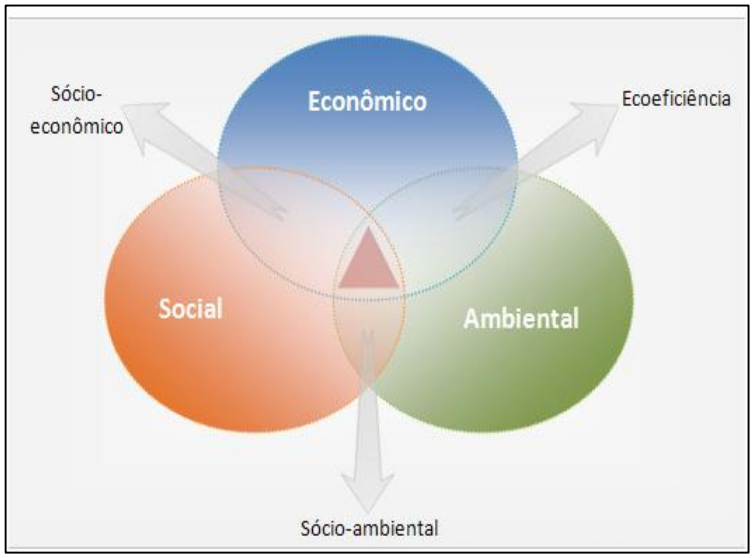
CAPÍTULO 2

REVISÃO BLIBLIOGRÁFICA

2.1 – Utilização de subprodutos orgânicos e a sustentabilidade

Baseado nos três pilares da sustentabilidade (Figura 6), o reaproveitamento dos resíduos de cana tem sido uma alternativa interessante para contornar a questão de descarte adequado e a problemática no volume de rejeito gerado.

Figura 6 - Os pilares da sustentabilidade



Fonte: (PLANAL, 2018)

O conceito de sustentabilidade baseia-se no desenvolvimento social e econômico sem comprometer as gerações futuras. Essa interseção entre os três pilares denomina-se sustentabilidade. Ao passo que essas interações aumentam, cresce-se também o desenvolvimento sustentável (VARGAS, SCHIAVINI *et al.*, 2012).

Logo, a utilização alternativa de biofertilizantes tais como estrume de bovinos e suínos e outros produtos naturais, tem grande importância para a economia agropecuária já que os custos dos fertilizantes minerais são vendidos a elevados valores (FERNANDES, CORÁ *et al.*, 2007; SANTOS, TIRITAN *et al.*, 2010; MAKUL e SUA-IAM, 2016; BHARALI, BARUAH *et al.*, 2017). Essa utilização de recursos biológicos une os patamares ambientais, onde o descarte desses rejeitos é conduzido a um destino adequado (eco eficiência), econômico, pois diminui a demanda de recursos destinado a fertilizantes minerais (socioambiental), impactando

diretamente no último patamar, o social, o que gera diminuição dos produtos finais (socioeconômico).

2.1.1 – Biofertilizantes de cana-de-açúcar

Para o uso desses recursos na agricultura é importante ter ciência sobre a composição nutricional dos mesmos. A composição da TF está relacionada com vários fatores, tais como espécie da cana-de-açúcar, tipo de solo onde a cultura é feita e maturação da cana (CORTEZ, MAGALHAES *et al.*, 1992). Dentre os nutrientes da TF, os principais citados são nitrogênio, cálcio e fósforo.

O nitrogênio nas plantas desempenha papel de componente estrutural na produção proteica e constituinte enzimático. É fundamental no crescimento da planta e sua deficiência pode causar atrofia do vegetal. Esse nutriente é absorvido do solo pelas plantas principalmente nas formas de NH_4^+ e NO_3^-. Assim como o nitrogênio, o potássio é outro importante elemento e requerido para o crescimento vegetal, além de fazer parte da regulação osmótica das células e ativações enzimáticas (FAQUIN, 2005). Na composição da TF estão presentes por volta de 38% de carbono o qual também desempenha papel estrutural nas plantas e constitui biomoléculas como amido e celulose.

O principal interesse nesse subproduto como biofertilizante é oriundo da porcentagem de fósforo que está de 1 a 2% (FIRME, 2005; ROSSETTO e SANTIAGO, 2012; FIRME, VILLANUEVA *et al.*, 2014). Esse macronutriente tem grande importância na nutrição vegetal para o crescimento e maturação e é encontrado em baixa concentração nos solos tropicais (SANDIM, VIAN *et al.*, 2009; SANTOS, MOURA FILHO *et al.*, 2009). A deficiência de fósforo afeta diretamente o caldo da cana, o qual possui difícil floculação na etapa de clarificação, ou seja, a decantação de impurezas indesejáveis no processo se torna mais trabalhosa, prejudicando o processo de fabricação do álcool e açúcar (SANTOS, FONSECA *et al.*, 2010). SANTOS e colaboradores (2011) estudaram a mistura da TF com fontes solúveis de fósforo (P_2O_5) a fim de se melhorar o aproveitamento do fósforo, ou seja, utilizar a TF como carregador orgânico para proteger o fósforo da fixação melhorando a disponibilidade deste nutriente às plantas. O autor conclui que o fósforo aplicado no sulco do plantio também melhora a qualidade da produção da cana, bem como a produtividade de açúcar.

Pesquisadores mostraram que a aplicação de TF aumentou a fertilidade do solo em consequência dos aumentos dos teores de macro e micronutriente, corrigiu a acidez do solo por conta da diminuição dos teores de Al enquanto que os fertilizantes promovem a acidificação (ALMEIDA JÚNIOR, NASCIMENTO *et al.*, 2011). Autores citam que os efeitos causados

pela aplicação da TF na cultura de cana ainda não são bem conhecidos. Os autores concluíram que a fertilização com TF foi mais eficiente, elevando a concentração foliar de boro do que a fertilização utilizando Bórax (ADORNA, CRUSCIOL *et al.*, 2013).

Já as CBCA geradas pela queima do bagaço da cana são ricas em sílica (SiO_2), tendo potencial para ser utilizada como adição mineral, substituindo parte do cimento em argamassas e concretos (FREITAS, 2005). Estudos citam que as CBCA podem ser usadas em solos com baixa fertilidade por apresentaram quantidades consideráveis de nutrientes, melhorando assim as características físico-químicas dos solos. Porém, concluem que ainda há necessidade de estudos em campo para definição da melhor forma de aplicação das CBCA ao solo (FEITOSA, MALTONI *et al.*, 2009).

Atualmente são encontrados trabalhos na literatura citando que as CBCA podem ser usadas em solos com baixa fertilidade por apresentarem quantidades consideráveis de nutrientes, melhorando assim as características físico-químicas dos solos (FIRME, 2005; ROSSETTO e SANTIAGO, 2012; FIRME, VILLANUEVA *et al.*, 2014). Logo, ainda há necessidade de estudos para definição da melhor forma de aplicação das CBCA ao solo, pois os efeitos causados pela aplicação da TF e CBCA na cultura de cana não são bem conhecidos.

Conforme os dados apresentados na introdução sobre a produção sucroalcooleira, pode-se estimar a quantidade de subprodutos produzida por conta da produção de álcool e açúcar. Portanto, o manejo correto e adequado dos subprodutos dessa produção é uma questão de suma importância para o meio ambiente, visando a sustentabilidade ambiental de todo o processo, seja por aplicação de taxas excessivas ou por desconhecimento das concentrações dos elementos presentes nesses subprodutos.

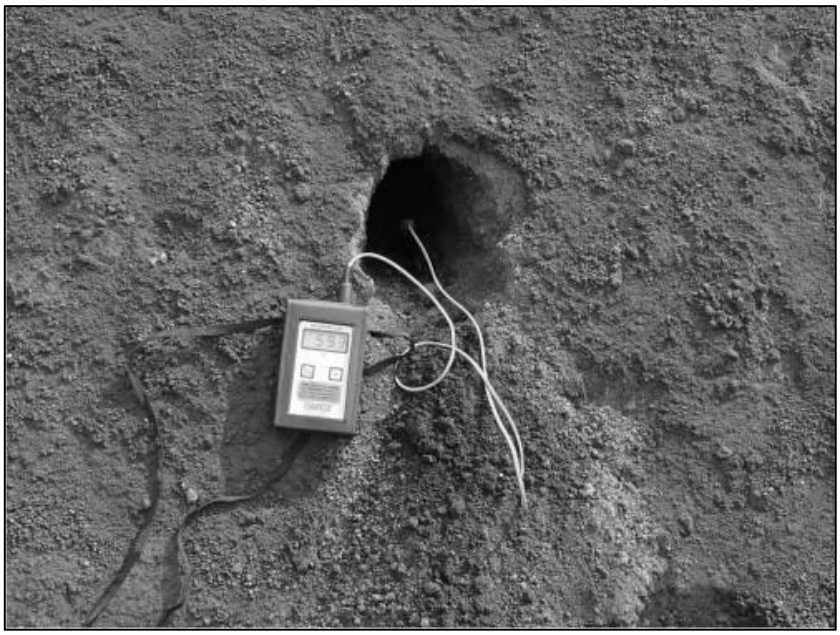
Estudos de efeito e caracterização da TF, CBCA e do solo tratado com esses compostos têm sido realizados para estabelecer parâmetros de aplicação, bem como a definição de taxas ideais de aplicação do produto ao solo podendo alcançar-se o melhor resultado, sem que haja prejuízo ao meio ambiente.

2.1.2 – Compostagem

A elaboração da compostagem da TF adicionando gesso, CBCA e palhada, tem agregado valor à TF, melhorando sua concentração em nutrientes e reduzindo sua umidade, o que pode ser vantajoso para o transporte a distâncias maiores e desvantajoso para plantios em épocas de estiagem (ROSSETTO e SANTIAGO, 2012).

O uso da compostagem é bem conhecido, tem impactante importância para a maturação do composto e é uma alternativa sugerida que vem sendo utilizada como manejo da TF e das CBCA (Figura 7) (MEUNCHANG, PANICHSAKPATANA *et al.*, 2005).

Figura 7 - Controle da temperatura durante a compostagem



Fonte: (BARAÚNA, 2018)

Porém, como o descarte no solo não é autorizado pelas agências ambientais do país ou pelo Ministério da Agricultura e como também não há norma que estipule que a etapa de compostagem seja necessária, ainda há resistência por conta dos produtores sucroalcooleiros em executar essa prática, devido à necessidade de se dispor de área, tempo e gastos para esse fim.

Estudos de efeito e caracterização da TF, CBCA e do solo tratado com esses resíduos têm sido realizados para estabelecer parâmetros de aplicação, bem como o tempo a definição de taxas ideais de aplicação do produto ao solo podendo alcançar-se o melhor resultado, sem que haja prejuízo ao meio ambiente (KHWAIRAKPAM e BHARGAVA, 2009; FRAVET, SOARES *et al.*, 2010; SANTANA, SANTI *et al.*, 2012). Já trabalhos que abordam o efeito da compostagem sobre esses resíduos ainda estão em baixo número na literatura, os quais podem mostrar que o uso desses subprodutos no solo pode ser uma alternativa interessante e econômica, desde que seja tecnicamente embasada (MEUNCHANG, PANICHSAKPATANA *et al.*, 2005; SEN e CHANDRA, 2007). O tempo ideal de compostagem é um fator importante para a maturação do composto. A aplicação de um composto não maturado traria malefícios ao

solo tais como a fitotoxicidade, indisponibilização de nitrogênio para a vegetação e o efeito *priming* negativo ao solo.

É notório que esses compostos apresentam elevado teor de biomassa a qual pode ser aportada ao solo. Diante disso, reforça-se a importância do conhecimento da dosagem ideal desses resíduos para a aplicação ao solo, por conta da possível ocorrência do efeito *priming* negativo, ou seja, a entrada de MO fresca estimular a decomposição da MO preexistente no solo (KUZYAKOV, 2010; WANG, BOUTTON *et al.*, 2015; QIAO, XU *et al.*, 2016).

Se por um lado a aplicação de um composto fresco traz a problemática do efeito *priming*, por outro, a adição de um composto excessivamente estabilizado, causaria a perda de N e polissacarídeos, além da indisponibilização de nutrientes tais como N e P (MEUNCHANG, PANICHSAKPATANA *et al.*, 2005).

Estudos visando a utilização da CBCA, da TF e da compostagem ainda estão em baixo número na literatura, os quais podem mostrar que o uso desses subprodutos no solo pode ser uma alternativa interessante e econômica, desde que seja tecnicamente embasada. Baseado nos efeitos causados pela adição desses subprodutos, torna possível a tomada de decisões e desenvolvimento de políticas públicas para normatização do uso desses materiais baseadas nas inferências sobre a MO (matéria orgânica) e MM (matéria mineral) e sobre as mudanças na composição elementar no solo antes, durante e após a aplicação dos resíduos ao solo.

2.2 – Matéria orgânica do Solo (MOS)

Define-se a MOS como sendo a mistura de compostos em vários estágios de degradação resultantes da decomposição biológica de animais e vegetais (STEVENSON, 1994; PICCOLO, 2001). Parâmetros físicos e químicos do solo como retenção de água, densidade do solo, pH, capacidade catiônica, aeração e atividade microbiana estão intimamente ligados com a qualidade da MOS, a qual é influenciada pelo tipo de vegetação, textura e umidade (SANTOS, 2006). Logo, a qualidade da MOS é considerada um "termômetro" importante para a produtividade vegetal (OLK, BLOOM *et al*., 2019; ARAÚJO, SANTOS *et al.*, 2008).

A MOS também é foco de estudos frequentes referentes às questões ambientais já que atua na ciclagem de nutrientes e no ciclo de carbono, elemento este que é constante motivo de atenção por conta da problemática do aquecimento global (CERRI e CERRI, 2007; SÁ, LAL *et al*., 2017). Os principais componentes da MOS são as substâncias húmicas, as quais possuem em sua estrutura, compostos com vários grupos funcionais de diferentes tamanhos moleculares

e estabilidades químicas (TADINI, NICOLODELLI *et al*., 2018; LEHMANN e KLEBER, 2015).

Basicamente a MOS é constituída por dois tipos de substâncias, as húmicas (ácido húmico, ácido fúlvico e humina) e as não húmicas (proteínas, aminoácidos, polissacarídeos, ácidos orgânicos entre outros compostos). Os componentes mais estabilizados, ou seja, mais resistentes à atividade microbiana por conta da sua alta estabilidade (rigidez) estrutural, são chamadas substâncias húmicas. Trata-se uma mistura de compostos com vários grupos funcionais os quais se diferenciam de acordo com suas características de solubilidade.

As substâncias húmicas são formadas através do processo de humificação, ou seja, há alterações das estruturas químicas da MOS pela degradação microbiana dos resíduos orgânicos o que quimicamente resulta na formação de compostos insaturados, aromáticos, rígidos e de alta massa molecular (SEGNINI, 2007).

A aplicação dos subprodutos da indústria sucroalcooleira promove a entrada de matéria orgânica (MO) fresca aos solos, já que se trata de frações da produção vegetal com alto valor nutritivo para a microbiota. Assim, compreender a dinâmica da MOS no estudo da aplicação dos subprodutos da indústria sucroalcooleira também é de suma importância para a avaliação e capacidade do solo de resistir às mudanças das propriedades físicas e químicas oriundas das alterações no uso da terra.

2.3 – Caracterização elementar em solos

O solo é o elemento principal da agricultura tradicional, o qual fornece nutrientes para o crescimento das plantas. Portanto, a avaliação detalhada de sua composição utilizando análises quantitativas exatas e precisas se torna indispensável para uma maior e melhor produtividade (BURAKOV, RAIKOV *et al.*, 2010).

Nos dias de hoje ainda há carência não apenas de procedimentos padrões, incluindo como por exemplo, necessidade, tempo e temperatura de moagem, granulometria do solo para análise, mas também quanto a protocolos e informações sobre métodos e técnicas analíticas mais adequadas para cada objetivo de análise de solo.

O intuito desses protocolos e procedimentos padrões seria o de otimizar as medidas a fim de se obter resultados mais coerentes, confiáveis e satisfatórios, unindo assim exatidão e precisão já que há grande heterogeneidade quando se trabalha com amostras ambientais.

Apesar da grande heterogeneidade do solo, são necessárias análises constantes na busca de um melhor manejo da terra com o intuito de se disponibilizar os nutrientes necessários para

a cultura em desenvolvimento. Para isso, normalmente utiliza-se as “análises de rotina”, onde se avaliam parâmetros físicos e químicos dos solos do ponto de vista agronômico.

A CETESB, Companhia de Ambiental do Estado de São Paulo, fornece um documento onde são estipulados os valores orientadores para as análises de água e solo, onde estão contidos valores de referência, prevenção e intervenção de compostos inorgânicos, hidrocarbonetos, organoclorados entre outros (CETESB, 2005). É de grande importância conhecer esse documento com o intuito de entender melhor quais as concentrações permitidas de tais compostos obtidos pelas análises de rotina de solo. Na Figura 8 é apresentada uma parte desse documento, com os valores orientadores de compostos inorgânicos para solo e água.

Figura 8 - Valores orientadores de compostos inorgânicos para solos - CETESB

VALORES ORIENTADORES PARA SOLOS E ÁGUAS SUBTERRÂNEAS NO ESTADO DE SÃO PAULO 2016

Substância	CAS Nº	Solo (mg kg^{-1} peso seco)					Águas Subterrâneas (µg L^{-1})
		Valor de Referência Qualidade	Valor de Prevenção	Valor de Intervenção (VI)			
		(VRQ)	(VP)	Agrícola	Residencial	Industrial	VI
INORGÂNICOS							
Antimônio (1)	7440-36-0	<0,5	2	5	10	25	5
Arsênio (1)	7440-38-2	3,5	15	35	55	150	10
Bário	7440-39-3	75	120	500	1300	7300	700
Boro	7440-42-8	-	-	-	-	-	2400
Cádmio	7440-43-9	<0,5	1,3	3,6	14	160	5
Chumbo	7439-92-1	17	72	150	240	4400	10
Cobalto (1)	7440-48-4	13	25	35	65	90	70
Cobre (2)	7440-50-8	35	60	760	2100	10000 (a)	2000
Crômio total (1)	7440-47-3	40	75	150	300	400	50
Crômio hexavalente	18540-29-9	-	-	0,4	3,2	10	-
Mercúrio	7439-97-6	0,05	0,5	1,2	0,9	7	1
Molibdênio	7439-98-7	<4	5	11	29	180	30
Níquel (2)	7440-02-0	13	30	190	480	3800	70
Nitrato (como N)	14797-55-8	-	-	-	-	-	10000
Prata (1)	7440-22-4	0,25	2	25	50	100	50
Selênio	7782-49-2	0,25	1,2	24	81	640	10
Zinco	7440-66-6	60	86	1900	7000	10000 (a)	1800

Fonte: CETESB, 2005

Além dos metais citados pela CETESB, também são alvos de pesquisas macro e micronutrientes tais como Zn, Cu, Fe, Mn, B, Al, Ca, Mg, K, Mg, P entre outros dependendo da cultura e o interesse do estudo (GEBBERS e ADAMCHUK, 2010), contaminantes, como por exemplo, Cd, Cr, Ni, Pb e As (CLEMENS, 2006).

Já a análise de carbono é uma das análises mais citadas em acordos internacionais presentes relacionados às mudanças climáticas globais (MCG) (TERRESTRE, 2007; CHANGE, 2013). O carbono oriundo da fotossíntese através do dióxido de carbono (CO_2) desempenha o papel principal de entrada de MO ao solo e é essencial para o crescimento da vegetação. Logo, estudos sobre a MOS também tem seu papel importante como indicativo sobre a qualidade do manejo em sistemas agropecuários (GE, YUAN *et al.*, 2012; CAI, LIU *et al.*, 2014).

No entanto, tais determinações elementares devem unir eficiência para que os resultados sejam robustos, obtidos com rapidez e de baixo custo e menor geração de resíduos. Além disso, quando se trata de um volume grande de amostras e análises, o uso de métodos caros, laboriosos e demorados, que geram grandes quantidades de resíduos químicos não são mais bem-vindos.

No caso da determinação de carbono, uma técnica bastante utilizada no passado foi a Walkley-Black, hoje substituída pela Análise Elementar (CHN/S) e TOC (*Total Organic Carbon*). Já no caso das determinações de metais, técnicas como ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry), AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*) e LIBS (*Laser Induced Breakdown Spectroscopy)* vêm ganhando espaço nos últimos anos. A técnica LIFS (*Laser Induced Fluorescence Spectroscopy*) também vem ganhando espaço nas análises envolvendo interesses na qualidade da MOS.

2.3.1 – Novas técnicas para determinação elementar em solos

Atualmente, existem técnicas bem estabelecidas tais como a espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente, ICP-OES e a espectroscopia de absorção atômica, AAS (BINGS, BOGAERTS *et al.*, 2010) entre outras para as determinações e quantificações de metais, como macro e micronutrientes em qualquer tipo de amostra. Porém, existem desvantagens nessas determinações, ou seja, demandam muito tempo e gastos, principalmente na etapa de preparo da amostra, onde são utilizadas misturas de ácidos fortes, contribuindo assim para uma maior geração de resíduos indesejáveis (PENG, LIU *et al.*, 2016).

Além do desenvolvimento de um estudo sobre a aplicação dos resíduos como biofertilizantes na produção sucroalcooleira no solo, o presente trabalho leva como um dos objetivos desenvolver métodos limpos, utilizando a espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser, LIBS, para quantificação desses nutrientes, dispensando praticamente toda a parte de preparo de amostras, onde as medidas são baratas e rápidas com a disponibilidade de se realizar medidas *in situ* sem a necessidade da realização de extração e/ou fracionamento químico do solo (SEGNINI, XAVIER *et al.*, 2014; PENG, LIU *et al.*, 2016).

LIBS é uma técnica espectroanalítica que utiliza pulsos de laser de alta energia para preparar a amostra e excitar os analitos em um único passo. Essa técnica tem possibilitado medidas qualitativas e quantitativas de praticamente todos os elementos da tabela periódica em qualquer tipo de material, independentemente de seu estado físico, sólido, líquido ou gasoso (SANTOS JUNIOR, TARELHO *et al.*, 2006; SEGNINI, XAVIER *et al.*, 2014; (BRICKLEMYER, BROWN *et al*., 2018).

Aliado à "Química Verde", filosofia esta que combate o uso excessivo de reagentes químicos e geração de resíduos, a técnica LIBS vem sendo fortemente defendida no meio da pesquisa no emprego de amostras de solos inteiros.

2.4 – Conceitos gerais sobre as técnicas utilizadas

2.4.1 – Análise Elementar (CHN/S)

A Análise Elementar (CHN/S) é a atual técnica instrumental de referência mais utilizada para calibração de outras técnicas instrumentais. Através dela é possível a quantificação de 4 elementos químicos presentes na amostra, carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N) e com a adição opcional de mais um módulo, também é possível quantificar enxofre (S).

A tecnologia associada à análise CHN/S é a combustão seca, dessa forma a amostra é totalmente queimada e em seguida os gases da sua combustão são analisados. Os produtos dessa combustão são CO_2 para análise de C, H_2O para análise de H e NO para análise de N, os quais são eluídos e separados por uma coluna cromatográfica. Todos os resultados da Análise Elementar são baseados em um valor de padrão conhecido, a acetanilida, um padrão orgânico de composição elementar conhecida (C=71,09%, H=6,71% e N=10,36%).

Essa técnica já dispensa boa parte do preparo de amostra e assim gera uma quantidade menor de resíduos químicos do que as técnicas de determinação via úmida. Também conta com baixos limites de detecção (LOD) e os limites de quantificação (LOQ), da ordem de 0,001% e 0,04% respectivamente.

2.4.2 – Luminescência

A luminescência (Figura 9) é dividida em dois processos: fluorescência e fosforescência, nos quais em ambos ocorre a absorção de fótons fornecidos por uma fonte externa e excitação eletrônica.

O estado fundamental de uma molécula consiste geralmente nos estados de valência de maior energia ocupados por elétrons. Esses elétrons podem ser excitados a níveis desocupados

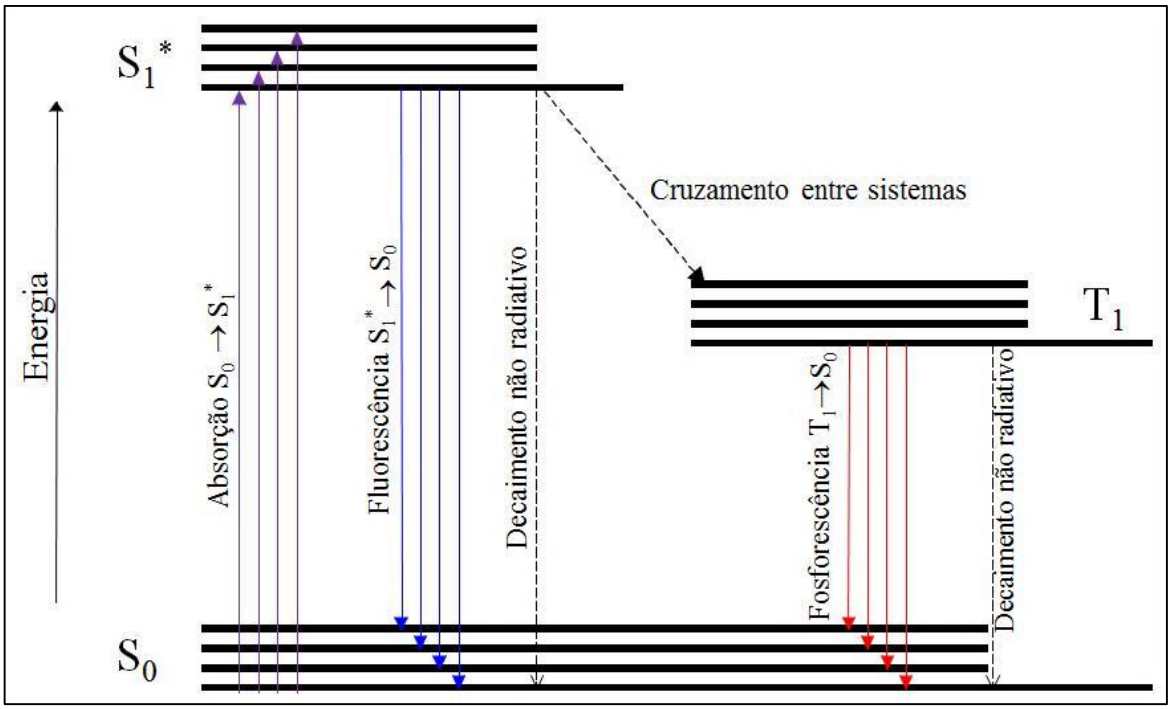
mais energéticos quando absorvem fótons (absorção da ordem de 10^{-14} s), ou seja, níveis de maiores energias do que o estado fundamental.

Na fluorescência o processo de decaimento radiativo de um estado excitado para o estado fundamental é rápido, da ordem de 10^{-9} s, e se processa a partir do estado excitado de mais baixa energia (S_1^*) após rápida ($<10^{-12}$ s) relaxação energética através de estados vibracionais. Nesse tipo de decaimento não há mudança de spin eletrônico ($S_1^* => S_0$).

Já na fosforescência esse decaimento dos estados excitados para o estado fundamental pode levar milissegundos ou segundos, e nesse caso, há mudança de spin eletrônico ($T_1^* => S_0$) quando elétrons nos estados (S_1^*) são transferidos para estados tripletos (T_1^*).

Essas transições eletrônicas são comuns em sistemas contendo elétrons não ligantes (n), ou elétrons ligantes (π), que são excitados para orbitais antiligantes π^* (SKOOG, HOLLER *et al.*, 2002).

Figura 9 - Diagrama de transição eletrônica de fluorescência molecular



Fonte: (XAVIER, 2014)

2.4.2.1 – Espectroscopia de fluorescência induzida por laser (LIFS)

Diversas técnicas são utilizadas para a avaliação da qualidade da MOS, quanto ao grau de humificação, por exemplo, a espectroscopia de absorção no UV-VIS, fluorescência de luz UV-VIS, ressonância magnética nuclear (RMN) e ressonância paramagnética nuclear (RPE). No entanto, essas técnicas instrumentais necessitam a etapa de fracionamento químico dos

solos, etapa essa que utiliza um procedimento padrão sugerido pela IHSS (*International Humic Substance Society*).

Dentro do ramo da avaliação da qualidade da MOS, podemos citar a técnica óptica Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser, FIL, ou LIFS em inglês, *Laser Induced Fluorescence Spectroscopy*, a qual apresenta algumas vantagens sobre as técnicas citadas acima.

Uma das vantagens da técnica é a possibilidade de se trabalhar com amostras *in natura*, ou seja, solos inteiros sem a necessidade de fracionamento químico e sem a interferência de metais paramagnéticos, a qual é uma limitação presente em algumas técnicas espectroscópicas já que íons como Fe^{3+} entre outros estão presentes em quantidades consideráveis quando se estuda Latossolos brasileiros.

Trata-se também de uma técnica com reduzido custo e baixa geração de resíduos, além de estar se mostrando bastante sensível para esse tipo de estudo (SEGNINI, 2007; SEGNINI, POSADAS *et al.*, 2010; SEGNINI, POSADAS *et al.*, 2011; SEGNINI, XAVIER *et al.*, 2019).

O princípio dessa técnica espectroscópica consiste em utilizar um laser para excitar as moléculas da MOS em amostras de solo inteiro, ou seja, não submetidas a fracionamento e coletar o sinal de fluorescência.

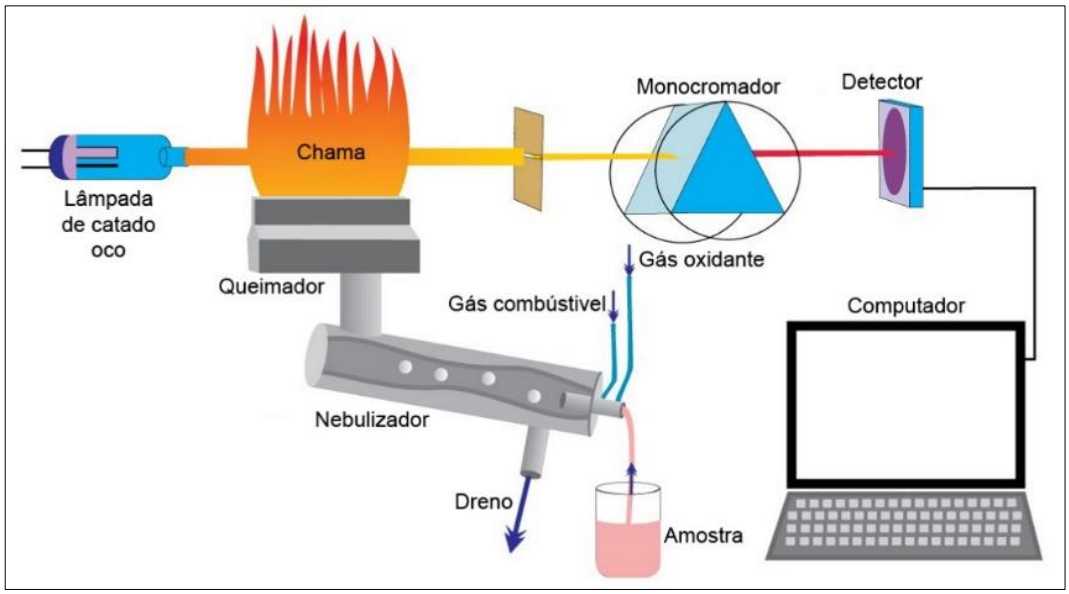
Essa excitação ocorre em grupos fluoróforos, ou seja, grupos orgânicos contendo anéis condensados e duplas ligações que apresentam fluorescência em comprimentos de ondas específicos. Logo, o resultado dessa interação do laser com o solo é a fluorescência de grupos funcionais da MO relacionados com o processo de humificação.

2.4.3 - Espectrometria De Absorção Atômica (AAS)

A espectrometria de absorção atômica é uma técnica que mede a intensidade da radiação eletromagnética absorvida por átomos gasosos no estado fundamental, fornecida por uma fonte de radiação primária. Trata-se de uma técnica quantitativa de elementos em amostras ambientais, biológicas, entre outras e pode ser operado em dois métodos, chama (FAAS) e forno de grafite (GFAAS). Na Figura 10 são mostrados os principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica no modo chama, modo este o qual foi utilizado no trabalho.

Resumidamente, esse modo opera da seguinte maneira: a amostra é aspirada para dentro do nebulizador que, por ação de fluxo de gás comprimido, é nebulizada na forma de aerossol e é conduzida para o queimador. O volume de amostra que alcança a chama fica em torno de 10%, sendo o restante descartado ao dreno.

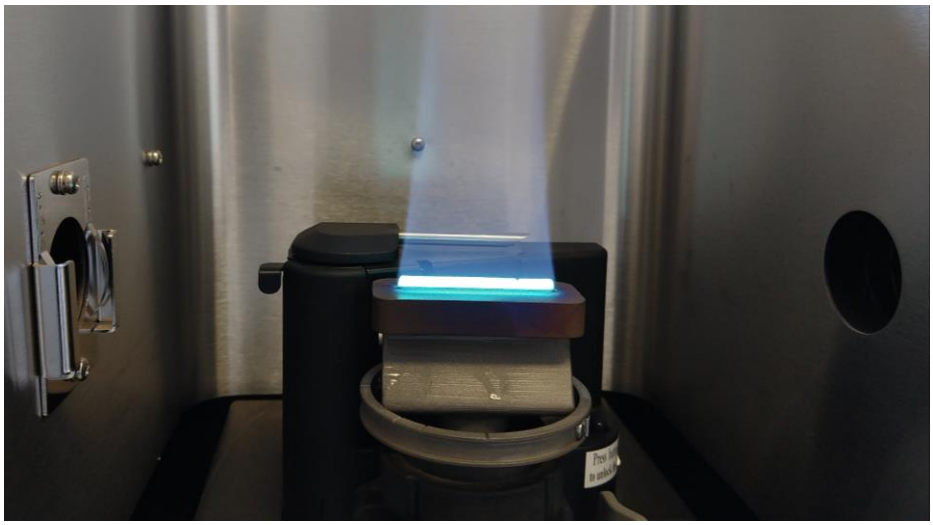
Figura 10 – Diagrama de componentes de um equipamento de FAAS.



Fonte: (LAB-TRAINING, 2014), adaptado

A chama (Figura 11) é mantida através de dois gases, combustível e oxidante, geralmente O_2 e acetileno, podendo ser utilizado oxido nitroso em conjunto com o intuito de aumentar significantemente sua temperatura. Sua função é a de levar íons e moléculas para átomos no estado fundamental, ou seja, a atomização. São grandes as variações da estequiometria dos gases da chama nos trabalhos com FAAS, indo de chama oxidante (azul) para chama redutora (amarela), dependendo dos analitos de interesse da pesquisa.

Figura 11 – Queimador de 50 mm utilizado na FAAS



Fonte: Autoria própria

A lâmpada de catodo oco é construída em um tubo de vidro preenchido com gás inerte (gás de enchimento), geralmente argônio ou neônio, e o catodo é constituído pelo próprio elemento metálico de interesse, o qual é posicionado em uma das extremidades do tubo. Já o cátodo é construído por um bastão de zircônio ou tungstênio posicionado na outra extremidade do tubo. Quando se aplica uma diferença de potencial entre o cátodo e o ânodo, há uma descarga dentro tubo fechado provocando ionização do gás e os íons são acelerados para o cátodo, os quais colidem com o mesmo, arrancando átomos que ficam confinados no interior do tubo oco. Esses átomos tendem a receber energia suficiente dos íons do gás de enchimento para atingir o estado excitado, ficando assim instáveis. Essa energia os leva ao decaimento ao estado fundamental, fazendo-os com que emitam a energia armazenada na forma de radiação eletromagnética em um comprimento de onda característico do elemento (SKOOG, HOLLER *et al.*, 2002). Logo, para determinação de cada elemento faz-se o uso de uma lâmpada especifica para aquele elemento.

A detecção ocorre pela quantidade de luz que passa através da chama, ou seja, obedecendo a lei de Lambert-Beer, segundo a *Equação 1:*

$$A = \varepsilon bc \qquad \textit{Equação 1}$$

Sendo, A é a absorbância, ε é a absortividade molar (L mol^{-1} cm^{-1}), b é o caminho óptico (cm) e c é a concentração em (mol L^{-1}).

2.4.4 – Espectroscopia de Emissão em Plasma Induzido por Laser (LIBS).

O interesse por técnicas utilizando laser começou na década de 80 após o desenvolvimento de lasers de alta potência, mais rápidos e de menor custo, mas ganhou força por volta de 1995 com o aumento de publicação de diversos artigos científicos. Em consulta realizada na página do Institute for Scientific Information (Webofscience.com) é possível observar o crescimento do número de trabalhos sobre LIBS nos últimos 10 anos (SANTOS JUNIOR, TARELHO *et al.*, 2006).

A técnica LIBS é um tipo de espectroscopia de emissão atômica que utiliza um pulso de laser de alta energia (~GW/cm^2) para, simultaneamente, preparar a amostra e excitar os átomos. Uma análise qualitativa do espectro de emissão fornece uma "digital" da amostra com relação à sua composição elementar em solos intactos. Com ela é possível a quantificação de praticamente todos os elementos da tabela periódica, dispensando parte ou total preparo de

amostras, onde as medidas são baratas e rápidas com a disponibilidade de se realizar medidas *in situ* (MIZIOLEK, 2006).

A ablação na superfície da amostra causada pelo pulso do laser de alta energia ocorre de modo a gerar um plasma onde são encontradas espécies iônicas excitadas e/ou atômicas, as quais retornam ao estado fundamental emitindo radiações características que são medidas pelo sistema de aquisição de dados. As intensidades das linhas de emissão atômica existentes no espectro estão intimamente relacionadas não apenas à concentração dos elementos presentes na amostra, mas também há grande relação com à matriz, pois a formação do plasma ocorre na superfície da amostra onde é possível haver flutuação na temperatura e densidade eletrônica do plasma (PENG, LIU *et al.*, 2016).

As etapas do processo de ablação geradas pelo pulso de laser apresentam a seguinte sequência: primeiramente um pulso de laser atinge a superfície da amostra removendo uma pequena quantidade de material e iniciando o processo de formação do plasma. Essa energia rapidamente é convertida em aquecimento (cerca de 50.000 K) (MIZIOLEK, 2006), fornecendo energia suficiente para a excitação para um estado de maior energia dos elementos presentes na amostra.

Durante as fases iniciais do plasma, a densidade de espécies é elevada, assim, em um primeiro momento as emissões são dominadas por uma luz branca, com pouca ou nenhuma variação com o comprimento de onda. É a chamada etapa de emissão contínua de luz, a qual ocorre entre 200 e 300 nanossegundos (ns) seguida do começo do esfriamento do plasma (MIZIOLEK, 2006).

A diminuição da temperatura do plasma começa a ocorrer por volta de 1 microssegundo, momento em que há a abertura dos espectrômetros para a aquisição do espectro. Portanto, a aquisição dos espectrômetros é feita depois de certo intervalo de tempo, o d*elay time*, que consiste no tempo entre o pulso do laser e o início da aquisição dos espectrômetros. A luz emitida é coletada por um conjunto de lentes e é enviada pelas fibras óticas aos espectrômetros onde os dados são convertidos em espectro e interpretados pelo computador (PASQUINI, CORTEZ *et al.*, 2007).

A técnica LIBS vem se tornando um método analítico popular nas últimas décadas, em vista a alguns aspectos únicos, tais como a aplicabilidade para alguns tipos de amostras, capacidade de sensoriamento remoto e pela análise rápida (HAHN e OMENETTO, 2010; 2012). Tem possibilitado medidas qualitativas e quantitativas de forma não destrutiva, sendo ablados entre 0,1 e 100 µg de amostra e análises rápidas (cerca de segundos) com possibilidade de medidas *in situ*. As principais vantagens da técnica são: necessidade de pouco ou nenhum

tratamento prévio da amostra, rapidez na obtenção dos resultados e também a possibilidade de se trabalhar com equipamentos portáteis no campo (DA SILVA, MILORI *et al.*, 2008).

Diversas aplicações para LIBS estão sendo estudadas nos dias atuais. Em novembro de 2011 a NASA (National Aeronautics and Space Administration*)*, em busca de criação de equipamentos portáteis e de operação remota, enviou um veículo espacial, batizado de *"*Curiosity*"*, equipado de um robô contendo um sistema LIBS para caracterização do solo marciano. Outra aplicação recente está sendo estudada por parte de agências militares, com o objetivo da detecção materiais explosivos e radioativos com a possibilidade do uso remoto desses equipamentos.

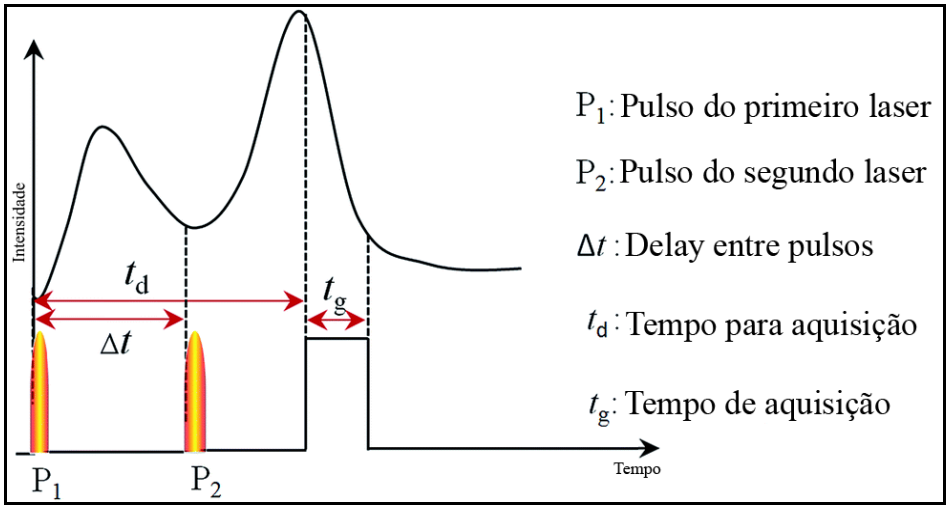
É comum dizer que LIBS, é em geral, menos sensível que outros métodos espectroscópicos, porém, esta afirmação precisa ser melhor qualificada, pois a busca pela melhoria da sensibilidade e limites de detecção tem sido ativamente progressiva nos últimos anos.

Existe um grande interesse em relação às novas instrumentações e abordagens analíticas, destinadas ao aumento da sensibilidade de LIBS e a redução dos efeitos de matriz de amostra, assim como, teste de novas e bem estabelecidas abordagens quimiométricas (HAHN e OMENETTO, 2012). Métodos multivariados podem ser usados como ferramentas para diminuir o efeito dessas variações a cada pulso (FERREIRA, MENEZES *et al.*, 2010). Por esse motivo há a prática de trabalhar-se com elevado número de disparos por amostra com o intuito de se obter um sinal médio estável e representativo da amostragem.

2.4.4.1 – LIBS – Duplo pulso

Abrangendo ainda as novidades sobre a técnica LIBS, também podemos citar os desenvolvimentos recentes sobre sistemas duplo-pulso (LIBS-DP) (*double-pulsed* ou *multi-pulsed*) onde após o primeiro laser (P_1) atingir a superfície da amostra, outro laser envia um segundo pulso (P_2) com certo tempo de atraso em relação ao primeiro (Δt), com o objetivo de atingir a amostra e re-excitar a região onde o plasma foi formado a partir do primeiro pulso (Figura 12). Tal pulso é reabsorvido pelo plasma e faz com que o sinal de emissão seja intensificado e o sinal é coletado num determinado tempo de aquisição (t_g ou *gate width*). Esse tempo de atraso pode ser chamado de *delay interpulse* (NICOLODELLI, MARANGONI *et al.*, 2014).

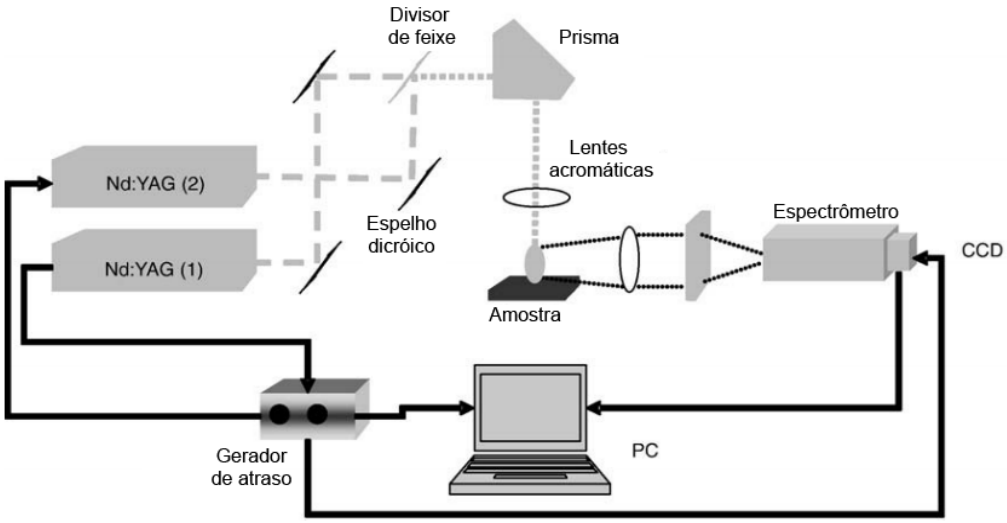
Figura 12 - Esquema temporal usado em LIBS-DP



Fonte: (SUN, MA *et al.*, 2018), adaptado.

Várias configurações ou disposições de lasers estão sendo estudadas, tais como configurações colineares, ortogonais com pré-ablação, ortogonal com reaquecimento e dois pulsos com feixes cruzados, com o intuito de se obter um melhor resultado (PASQUINI, CORTEZ *et al.*, 2007). A configuração colinear consiste na incidência de dois lasers colineares, ortogonalmente à superfície da amostra, com um tempo de atraso entre o primeiro e o segundo. Uma representação esquemática de um sistema LIBS-DP é apresentada na Figura 13 a seguir.

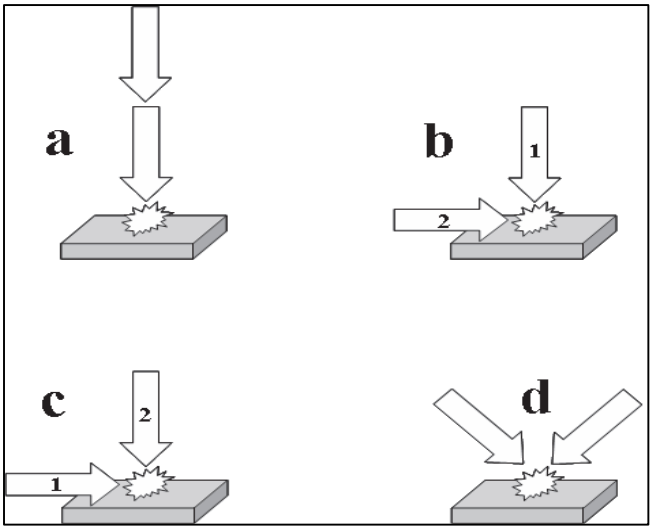
Figura 13 - Representação esquemática de um sistema LIBS-DP.



Fonte: (PISCITELLI, MARTINEZ *et al.*, 2009)

As configurações ortogonais são constituídas por dois lasers dispostos a 90º um do outro. Diferem de pré-ablação ou reaquecimento por conta de qual dos lasers atinge primeiro a amostra. No caso da pré-ablação, o laser paralelo à superfície da amostra é pulsado primeiro e em seguida o laser perpendicular à superfície é pulsado. Já no caso do sistema ortogonal com reaquecimento, o laser perpendicular à amostra é pulsando e em seguida o laser paralelo atinge a superfície. Na Figura 14 são representadas as configurações experimentais de LIBS-DP (PISCITELLI, MARTINEZ *et al.*, 2009).

Figura 14 - Configurações experimentais de LIBS-DP onde: a) Colinear; b) ortogonal reaquecimento; c) ortogonal pre-ablação; d)feixe cruzado



Fonte: (PASQUINI, CORTEZ *et al.*, 2007)

Outra vantagem do sistema LIBS com duplo pulso é a possibilidade de alterarmos o tempo entre o pulso de ablação e a detecção do espectro (*delay time*). Como o objetivo é trabalhar com vários elementos, um atraso variável é de grande interesse, pois permite otimizar a aquisição do espectro com ênfase nos elementos de interesse.

Pesquisadores avaliaram os efeitos de três parâmetros instrumentais da técnica LIBS: energia do pulso laser, tempo de atraso (*delay time*) entre excitação e detecção e tempo de integração na taxa de relação sinal-ruído de sete elementos em amostras de solo. Este trabalho apontou que o melhor compromisso entre intensidade de sinal e baixo ruído deve ser analisado caso a caso, uma vez que cada análise apresenta comportamento físico diferente devido à natureza intrínseca de cada plasma induzido em cada amostra (FERREIRA, ANZANO *et al.*, 2009).

2.4.4.2 - Modelos de calibração

Com o desenvolvimento rotineiro e contínuo de técnicas instrumentais espectroscópicas em conjunto à evolução dos sofisticados sistemas de detecção, a aquisição de dados tornou-se muito rápida, porém cada vez mais complexa, variada, expressiva e com grande volume e conteúdo. No caso da técnica LIBS, o objetivo principal é a criação de modelos ou métodos matemáticos, através da extração de informações pertinentes dos espectros com a finalidade de quantificar os elementos determinados pelas técnicas de referência.

Devido à composição das amostras de solo, a qual envolvem a presença de uma ampla gama de compostos, a extração dessas informações ocorre de maneira trabalhosa (CLEGG, SKLUTE *et al.*, 2009). Tal complexidade também é levada em conta nas interações laser-amostra, e consequentemente, na formação do plasma. Logo, o efeito de matriz se torna evidente e pronunciado quando se trabalha com diferentes tamanhos de partículas, como no caso de solos onde a composição textural apresenta grande variabilidade (SEGNINI, XAVIER *et al.*, 2014).

Assim, a construção de modelos de calibração para quantificação elementar ainda se trata de um estudo árduo onde são empregadas inúmeras etapas, desde pré-tratamentos, remoção de *outliers*, estudo das regiões espectrais, isolamento de picos e linhas, onde também são considerados os fatores citados anteriormente, na tentativa de sucesso para contornar a problemática da variabilidade de formação do plasma.

Análises elementares do ponto de vista nutricional do solo vêm sendo muito estudadas de formas qualitativas (BARBINI, COLAO *et al.*, 2002; MENG, ZHAO *et al.*, 2017), semi-quantitativas (BARBINI, COLAO *et al.*, 1997; ISMAEL, BOUSQUET *et al.*, 2011) e quantitativas (MARTIN, A.MAYES *et al.*, 2013; NICOLODELLI, MARANGONI *et al.*, 2014).

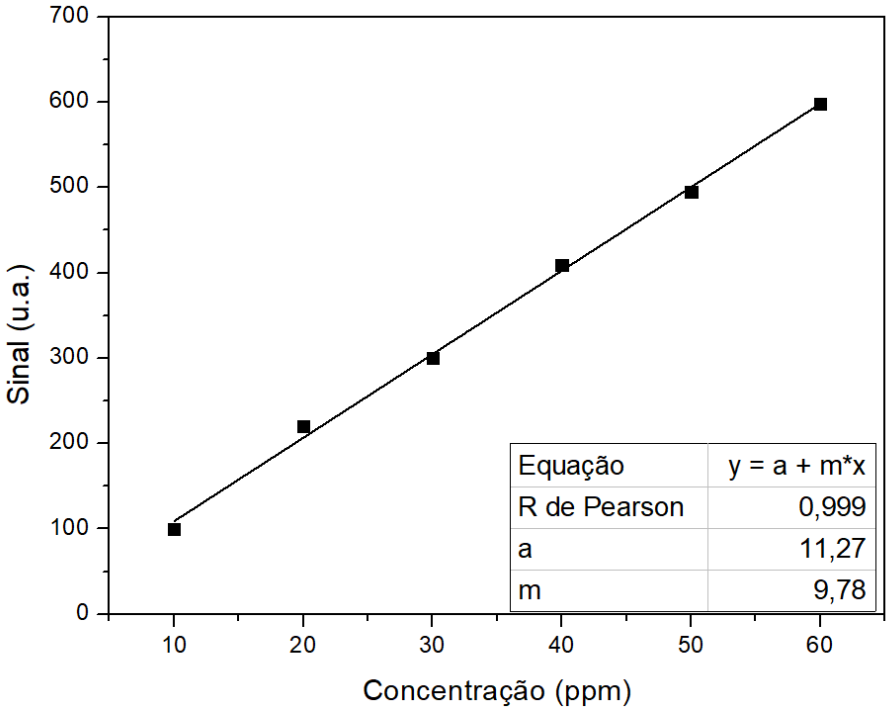
Para atingir o objetivo, os resultados de LIBS foram comparados com as técnicas de referência (CHN, ICP-OES e AAS) por modelos matemáticos tanto univariados (NICOLODELLI, SENESI *et al.*, 2016), utilizando informações espectrais do pico tais como intensidade, área, largura à meia altura (*Full-width at half maximum*, FHWM) e integrais parciais, quanto multivariados (MARTIN, MAYES *et al.*, 2013; EL HADDAD, BRUYÈRE *et al.*, 2014; SENESI e SENESI, 2016; RÜHLMANN, BÜCHELE *et al.*, 2018), utilizando regiões espectrais.

2.4.4.3 – Calibração univariada

Para construção de um modelo ou curva de calibração linear univariada trabalha-se com apenas uma resposta, usualmente com a intensidade, área do pico do elemento em interesse ou alguma operação matemática entre esses parâmetros (NICOLODELLI, MARANGONI *et al.*, 2014; SEGNINI, XAVIER *et al.*, 2014). O intuito é determinar uma equação na forma $y = ax + b$, onde "a" é o coeficiente angular e "m" é o coeficiente linear da reta, a qual se ajuste melhor à distribuição das amostras, numa relação entre valores obtidos pela técnica de referência (eixo x) e valores determinados por LIBS (eixo y) (Figura 15).

Para que esta curva apresente maior coeficiente de correlação (R), isto é, melhor ajuste entre os pontos experimentais e a reta obtida, é necessário minimizar as diferenças entre os valores amostrais e o melhor ajuste. Esta é a chamada aproximação por mínimos quadrados, onde trabalha-se com a soma dos quadrados das diferenças entre os valores amostrados e os valores obtidos pela aproximação.

Figura 15 – Curva de calibração genérica



Fonte: Autoria própria

2.4.4.4 – Calibração multivariada

Enquanto que a calibração univariada leva em consideração apenas uma resposta ou variável, a calibração multivariada emprega um conjunto de mais de um parâmetro para formular um modelo de calibração, como por exemplo, uma região ou faixa espectral. Normalmente trabalhamos com cerca de 600 pontos espectrais já que um pico abrange por volta de 40 pontos espectrais. Como cada ponto espectral é independente do outro, cada ponto é considerado uma variável.

Nesse caso, como o número de variáveis é relativamente alto, há necessidade do emprego de técnicas matemáticas e/ou estatísticas para a redução das variáveis a serem analisadas. Deste modo, uma técnica amplamente aplicada é a de análise de componentes principais (*Principal Component Analysis*, PCA). Este método permite assim o descarte de informações redundantes, ou seja, estuda-se apenas as componentes principais (PCs) que apresentam maior variância. As PCs são combinações lineares das variáveis originais independente, ortogonais, a quais não são correlacionadas entre si.

Outro método amplamente empregado é a regressão por mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares*, PLS) é uma técnica de análise de dados multivariados utilizada para correlacionar as variáveis resposta (matriz Y) com variáveis independentes (matriz X), utilizando de variáveis latentes (fatores). No caso deste trabalho, a matriz X seria formada pelas intensidades de cada comprimento de onda obtidas pelos espectros LIBS e a matriz Y seria formada pelos valores de concentração obtidos pela técnica de referência.

As componentes utilizadas na construção do modelo representam o número de vetores (*scores*) os quais tem o mesmo número de pontos espectrais que o espectro original. Logo, a primeira componente terá peso maior (*loadings*) na construção do modelo na região do pico do elemento, ou seja, na região onde está contida a maior informação sobre a concentração do analito.

O desenvolvimento dos modelos utilizando PLS foi realizado empregando algoritmos computacionais em MATLAB. Inicialmente foram construídos modelos de esboço utilizando 12 PCs, para obter-se informações a respeito de como a variância é explicada por componentes dos modelos. Diante do resultado, determinou-se o número de PCs necessários para construção do modelo. A escolha do número adequado de PCs é um passo importante para determinar-se a melhor condição para construção do modelo e paralelamente evitar sobre-modelamentos (*overfitting*).

Determinado o número de PCs, dividiu-se o conjunto amostral em conjunto de treino (calibração), abrangendo 90% do total das amostras e conjunto de validação (predição) abrangendo 10% do total das amostras.

Para predição, utilizou-se o processo da validação cruzada, ou seja, uma amostra é retirada do conjunto e um modelo é construído; diante do modelo construído, a amostra que foi retirada é predita pelo mesmo. Esse procedimento realizado foi repetido para todas as 84 amostras do conjunto, mantendo-se a mesma proporção anteriormente citada para ambos os conjuntos.

Nesse estudo, fixou-se 5 como o número máximo de amostras a serem validadas pelo modelo, ou seja, 5 amostras são retiradas do conjunto amostral a cada modelo criado e essas são utilizadas para a validação do mesmo. Terminada todas as combinações possíveis, os resultados de saída do programa, mostram a melhor condição de capacidade de predição.

Para avaliar a qualidade do ajuste dos modelos considerou-se os coeficientes de determinação para a curva de calibração (R_c^2) e para a curva de validação (R_p^2). Para a predição utilizou-se a validação cruzada e então foram determinados os desvios padrões populacionais (*Root Mean Squared Error*, RMSE) para ambos os conjuntos, de calibração (*Root Mean Squared Error Calibration*, RMSEC) e predição (*Root Mean Squared Error Prediction*, RMSEP) segundo a *Equação 2*:

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

Sendo, n é o número é o número de amostras do conjunto; $\hat{y}_i$ é valor predito pela curva e y_i é o valor de referência.

2.4.4.5 – Limite de detecção e Limite de quantificação

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) tratam-se de dois parâmetros analíticos utilizados para garantir a segurança e a confiabilidade dos resultados obtidos na construção do modelo ou curva de calibração. O LOD trata-se da menor concentração de analito de interesse que pode ser detectado de forma confiável e diferente de zero ou distinguível do nível de ruído do sistema. O LOQ é a menor concentração de analito que pode ser quantificado de forma confiável e diferente de zero.

Há inúmeros conceitos e definições sobre essas duas figuras de mérito em química analítica, bem como controvérsias entre os métodos de determinação dos mesmos.

Nesse trabalho foram calculados os LOD e LOQ a partir da recomendação da IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) (CURRIE, 1995) definidos pelas *Equações 3 e 4*.

$$LOD = \frac{3,3 \cdot SD}{m} \qquad \textit{Equação 3}$$

$$LOQ = \frac{10 \cdot SD}{m} \qquad \textit{Equação 4}$$

Sendo, SD é desvio padrão das medidas do branco e *m* é coeficiente angular da curva de calibração (slope). Logo, $m = tg\theta$ (Figura 15).

Essa definição utilizada pela IUPAC é conflitante quando se trabalha com amostras ambientais como no caso desse trabalho, no qual há dificuldade ou não existe uma amostra de branco, ou seja, não há solo onde não haja analito de interesse. (NOMURA, SILVA *et al.*, 2008). Logo a determinação do termo SD das equações anteriores deve ser tomada de forma cautelosa e com certa prudência.

Duas formas principais para a determinação do termo SD das equações podem ser tomadas. Em trabalhos anteriores (SEGNINI, XAVIER *et al.*, 2014; XAVIER, 2014; TREVIZAN, SANTOS *et al.*, 2009) os LOD das curvas de calibração utilizando LIBS foram estimados apoiados na definição proposta pela IUPAC, porém, os autores utilizaram uma condição de contorno que foi empregar o SD como sendo o desvio padrão das intensidades do pico (I_S) da amostra com menor teor do analito em estudo, com o objetivo de aproximar-se ao máximo do valor mínimo possível determinado no conjunto amostral.

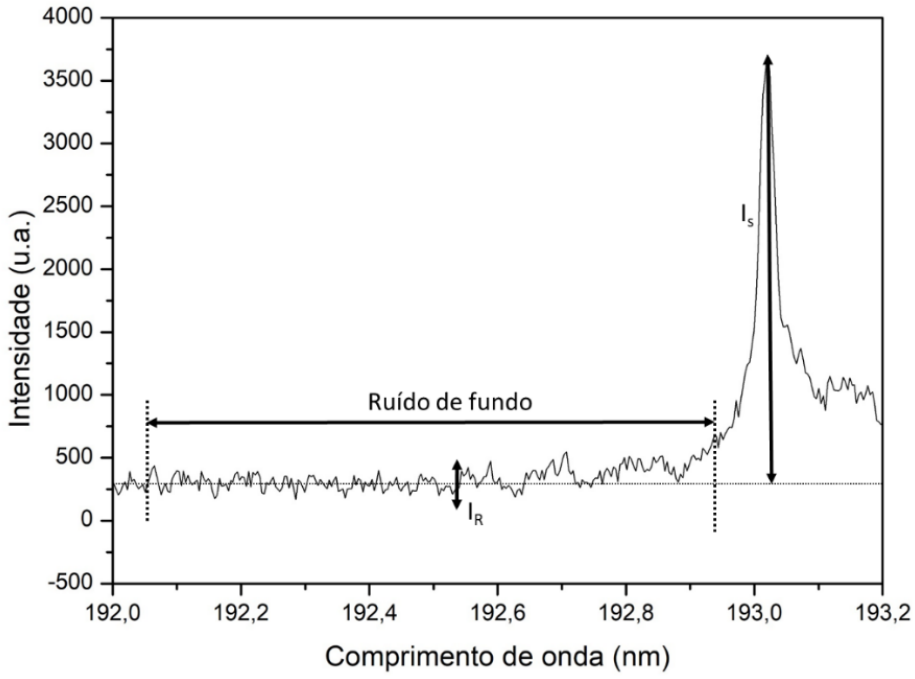
Há outra forma de se determinar o termo SD utilizando espectros LIBS. Trata-se de utilizar uma região de ruído a mais próxima possível do pico do analito em estudo (HEYDEN E BOQUÉ, 2009). Nesse caso o conceito envolvido é a relação sinal/ruído, dada pela *Equação 5*:

$$SNR = \frac{I_S}{I_R} \qquad \textit{Equação 5}$$

Sendo, I_S é a intensidade do sinal do pico e I_R é a intensidade média do ruído de uma região espectral próximo ao pico (Figura 16).

Para o cálculo do termo SD utilizando a segunda forma, escolheu-se arbitrariamente uma região espectral de ruído próxima ao pico de interesse e trabalha-se com o desvio padrão das intensidades dessa janela. Considera-se assim a razão entre a intensidade do pico (I_S) e a intensidade média do ruído (I_R) como sendo o parâmetro de distinção entre informações confiáveis (pico) de informações duvidosas (ruído).

Figura 16 – Relação Sinal/Ruído em um espectro LIBS típico de solos



Fonte: Autoria própria

Nesse trabalho foram calculados os LOD e LOQ para as curvas de calibração dos elementos quantificados utilizando FAAS. Também foram avaliados os LOD e LOQ dos modelos gerados utilizando LIBS empregando os dados obtidos pelas técnicas de referência, FAAS e CHN/S.

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

Esse trabalho foi realizado em vínculo à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária (FCAV), UNESP, Campus de Jaboticabal e contou com a parceria e colaboração do prof. Dr. José Eduardo Corá, professor titular do Departamento de Solos e Adubos. A escolha do tipo de solo, dosagem dos biofertilizantes e o delineamento experimental foram sugeridos pelo pesquisador.

Em reuniões com os pesquisadores Dra. Débora Milori e o Prof. Dr. José Eduardo Corá e com o intuito de se acompanhar mais proximamente o efeito da aplicação dos subprodutos no solo, ficou definido trabalhar com um experimento de incubação temporal em laboratório, ou seja, em menor escala, utilizando vasos experimentais preenchidos com solo, subproduto e água em proporções a serem detalhadas nos próximos tópicos.

O experimento miniaturizado (Figura 17) foi idealizado por conta dos resultados obtidos em experimentos de campo anteriores (CARVALHO, 2015). Nesse caso, almejou-se realizar um estudo mais controlado, envolvendo menor número de variáveis de campo tais como clima, tempo, cultura e homogeneidade da área de estudo, fatores estes os quais não são passíveis de controle em um experimento de campo.

Figura 17 - Experimento de incubação temporal

Fonte: Autoria própria

O trabalho foi divido em duas partes:

A primeira etapa consistiu na caracterização prévia dos subprodutos, utilizando Análise Elementar (CHN/S) para determinações de C e N e espectrometria de absorção atômica no modo chama (*Flame Absorption Atomic Spectroscopy*, FAAS) para determinações das concentrações de macronutrientes (K e Mg), micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) e possíveis contaminantes (Cd e Cr). Os mesmos elementos foram selecionados a quantificação nas amostras de solo incubado. Ainda na primeira etapa, foi estudado também o grau de humificação, ou seja, a qualidade da matéria orgânica do solo (MOS) utilizando-se a espectroscopia de fluorescência induzida por laser (*Laser Induced Fluorescence Spectroscopy*, LIFS).

Já a segunda etapa teve o objetivo de desenvolver métodos para quantificação dos mesmos elementos utilizando a espectroscopia de emissão em plasma induzido por laser (*Laser Induced Breakdown Spectroscopy*, LIBS) baseando-se nos dados obtidos na primeira etapa como valores de referência. A partir dessa investigação analítica foram desenvolvidos métodos com medidas rápidas e de baixo custo, com o mínimo de preparo de amostra, sem a utilização de reagentes químicos e a geração de resíduos, seguindo os preceitos da Química Verde.

3.1 – Delineamento experimental

Foram definidos seis tratamentos para esse experimento de incubação constituídos de aplicações de TF, CBCA e seus compostos a um único tipo de solo em uma dose única proporcional a 40 Mg ha^{-1} (base seca). Os seis subprodutos foram incorporados ao solo, acompanhados pela testemunha (dose zero ou controle). O solo utilizado no experimento foi um Latossolo Vermelho Eutrófico – LVE. As análises químicas de fertilidade do solo foram realizadas na FCAV. Já os subprodutos foram coletados na Usina Colombo, no município de Santa Adélia-SP.

Os seis tratamentos em estudos são:

1) CBCA fresca (sem compostagem prévia);
2) CBCA compostada (com compostagem prévia em terreiro);
3) TF fresca (sem compostagem prévia);
4) TF compostada (com compostagem prévia em terreiro);
5) Composto A – 50% TF e 50% CBCA (compostados juntos)
6) Composto B – 75% TF e 25% CBCA (compostados juntos)

A caracterização do solo como relação à classificação e textura foi realizada pela equipe do Departamento de Solos e Adubos da FCAV (UNESP). A compostagem da CBCA e TF (compostos A e B) foram realizados na FCAV, utilizando leiras revolvidas em intervalos de tempo. Não foram utilizados quaisquer tipos de correção de pH na etapa da compostagem e o fim desta compostagem deu-se quando não houve mais aumento na temperatura no interior dessas leiras.

Como se trata de um experimento de incubação temporal, foram definidas coletas em 10 intervalos de tempo de 7, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 dias. Portanto, foram utilizados 210 potes de aproximadamente 300 mL ((1 testemunha + 6 tratamentos) x 3 repetições x 10 coletas temporais). Um esquema do experimento com os tempos de incubação é apresentado na Tabela 1.

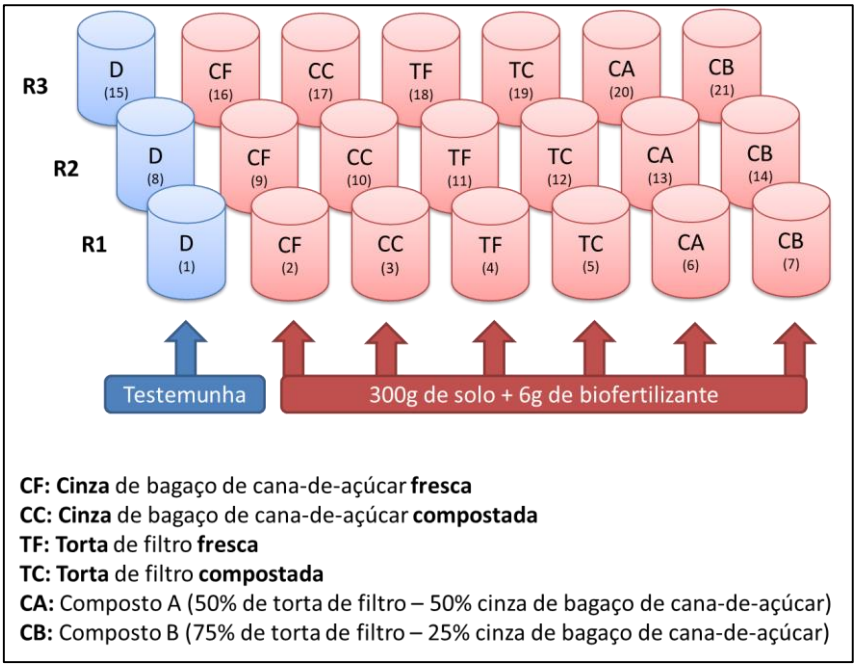
Tabela 1 - Esquema experimental temporal

Tempo	**Dias**	**Data de secagem**	**Amostras**
T0	5	14/10/2015	1 a 21
T1	15	23/10/2015	22 a 42
T2	30	09/11/2015	43 a 63
T3	45	24/11/2015	64 a 84
T4	60	09/12/2015	85 a 105
T5	120	05/02/2016	106 a 126
T6	180	07/04/2016	127 a 147
T7	240	09/06/2016	148 a 168
T8	300	09/08/2016	169 a 189
T9	360	08/10/2016	190 a 210

Fonte: Autoria própria

As amostras foram nomeadas e classificadas conforme a Figura 18. Nela são demonstrados os potes de solo de cada tratamento, bem como as repetições, a descrição dos subprodutos e a numeração das amostras entre parênteses.

Figura 18 - Esquema do experimento



Fonte: Autoria própria

3.1.1 – Dose de aplicação

Com o intuito de se trabalhar com a dose proporcional a 40 Mg ha^{-1} comumente utilizada em campo, foi realizado o cálculo da concentração dos subprodutos definindo e fixando a massa de solo nos vasos em 300 g. Sabendo-se que 1 hectare (ha) corresponde a uma área quadrada de 100 m de lado, logo 1 ha = 10.000 m^2. Supondo ainda que os resíduos fossem aplicados a uma profundidade de 20 cm (0,2 m), o volume de solo aproveitado em 1 ha seria de 10.000 m^2 x 0,2 m = 2.000 m^3 ou 2.000.000 dm^3. Logo, 1 ha ≈ 2.000.000 kg de solo, considerando a densidade do solo sendo 1 g/cm^3.

Sabendo que 40 Mg ha^{-1} = $40x10^3$ kg/ha ou 40 ton/ha e fixados 300 g de solo para cada vaso tem-se que:

40.000 kg de subproduto - 2.000.000 kg de solo

X kg de subproduto - 0,300 kg de solo

X = 0,006 kg = 6,0 g de subproduto.

Logo, cada pote foi preenchido com 300 g de solo e 6 g de subproduto para cada um dos potes.

3.1.2 – Cálculo da umidade da incubação

O solo utilizado no trabalho foi coletado no campus da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária (FCAV), UNESP, Campus de Jaboticabal, previamente peneirado a 6 mm. Realizou-se a secagem ao ar de todo o solo em bandejas e posteriormente peneirado a 2 mm. Os seis tratamentos também foram secos ao ar, moídos e peneirados a 1 mm. Optou-se por trabalhar com o solo a 2 mm e os subprodutos a 1 mm para a melhor homogeneização da mistura.

Depois de estabelecida a massa de 300 g para cada vaso de incubação, determinou-se o volume que os 300 g de solo ocupariam nos vasos, com o intuito de definir-se a quantidade de água utilizada no processo de incubação. Para essa determinação, a massa de solo foi adicionada a uma proveta a fim de se aferir o volume que o solo ocuparia.

A fim de determinar-se a umidade ótima para o solo, foi realizado um teste onde o solo não ficasse nem tão seco e nem tão saturado de água. Nesses testes foram montados vários vasos utilizando potes de plásticos de 300 mL de volume total, sendo um para cada tratamento a ser estudado.

Foram adicionados 70 mL de água o que corresponde a aproximadamente 30% do volume que 300 g de solo ocupam dentro do vaso (230 mL). Os potes foram acondicionados em uma estante da sala de incubação e a temperatura da sala também está fixada a 25 ºC durante todo período de incubação.

Executou-se também a determinação da umidade residual do solo e de cada subproduto. Para isso, foram pesados cerca de 6 g de cada subproduto em cadinhos de alumínio, os quais foram levados à estufa por 24hs à 60 ºC. Já para a determinação da umidade residual do solo trabalhou-se com cerca de 60 g, os quais foram secos a 105 ºC durante 24hs.

A umidade residual foi calculada pela diferença de massa inicial e final dos subprodutos e do solo, resultando em aproximadamente 1,5% (4,5 mL de 300 g de solo) e aproximadamente 5% (0,3 mL de 6 g de subproduto) em cada subproduto em questão.

Por fim, decidiu-se diminuir a quantidade de água para 60 mL, umidade considerada ideal para esse tipo de solo, onde aproximadamente 5 mL já estavam presentes nas umidades residuais do solo e dos subprodutos. Logo, foram adicionados 55 mL de água para cada pote, 24% da capacidade de campo.

3.1.3 – Montagem do experimento

Após os cálculos de umidade residual dos solos e dos subprodutos, bem como os testes de umidade ótima, a próxima etapa foi a montagem do experimento propriamente dito. Foram

pesados 300 g de solo em cada um dos 210 sacos plásticos nos quais foram adicionados 6 g dos subprodutos como delineado anteriormente. Essa mistura foi homogeneizada e transferida para cada um dos 210 vasos onde foram adicionados 55 mL de água. Todos os 210 potes foram pesados e as massas iniciais dos potes (sem tampa) foram anotadas.

O tempo T0 ficou definido como sendo de 5 dias após a instalação do sistema. Esse tempo foi sugerido a fim de que a água adicionada se redistribuísse por todo o solo.

A partir daí o controle de umidade do solo foi realizado por gravimetria, ou seja, pesagem contínua dos frascos. Para essa avaliação utilizou-se uma balança da marca Shimadzu, modelo BL3200H. A massa perdida (perda de umidade) foi reposta pela adição de água potável aos potes, ou seja, completou-se a massa do pote com água até a massa inicial.

O experimento foi executado de outubro de 2015 até outubro de 2016 mantendo os mesmos cuidados durante todo o experimento.

3.2 – Preparo das amostras

Secou-se o solo ao ar e à temperatura ambiente durante aproximadamente duas semanas, até que a massa se tornasse constante.

O início do preparo das amostras consistiu na moagem com a utilização de almofariz e pistilo e o peneiramento do solo em peneiras de 0,150 mm (100 mesh) para posteriores análises de determinações de carbono, caracterizações espectroscópicas e confecção das pastilhas para realização das análises propostas.

Tanto para as medidas espectroscópicas de LIBS quanto as de LIFS, as amostras de solos previamente moídas, foram prensadas em pastilhas assumindo dimensões de 1 cm de diâmetro, 2 mm de espessura e 0,5 g de massa, a fim de facilitar a colocação das mesmas no sistema utilizado para a análise, padronizando a forma física das amostras.

Os subprodutos foram submetidos ao mesmo procedimento de preparo das amostras exceto para a TF que, por conta dos altos teores de fibras, utilizou-se nitrogênio líquido para facilitar a moagem a 100 mesh para posteriores caracterizações. Não foram confeccionadas pastilhas dos subprodutos por conta da falta de liga do material sem a adição de um ligante.

3.3 – Análises

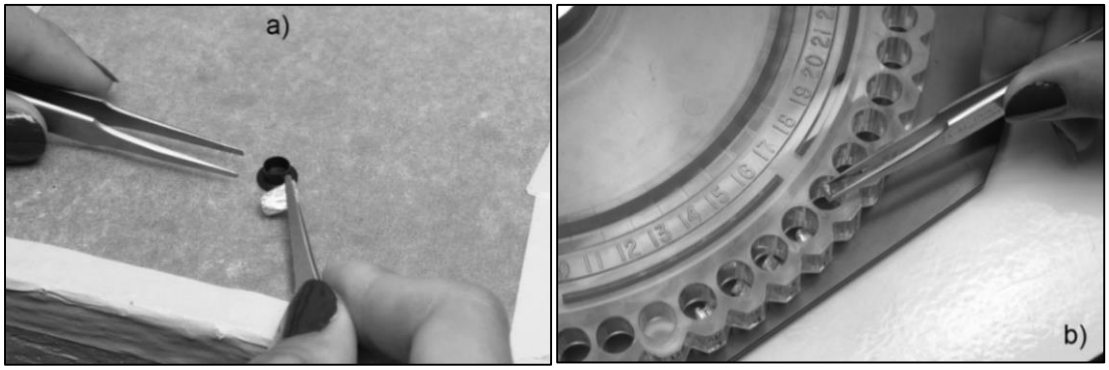
Para avaliar o efeito da aplicação dos subprodutos ao solo, foram avaliados os teores de C e N não apenas nas amostras de solo incubado, mas também nos subprodutos *in natura*. A partir desses dados foi possível realizar uma estimativa de incorporação de C ao solo incubado

advinda das aplicações. Também foi avaliada a estabilidade da MOS utilizando LIFS para todas as amostras do experimento a fim de se estudar a evolução estrutural dos compostos orgânicos aportados ao solo. Para complementar os dados de C e N, avaliou-se as concentrações de macro e micronutrientes utilizando FAAS. Foram avaliados os elementos Cu, Fe, K, Mg, Mn, Zn, Cr e Pb.

3.3.1 – Análise elementar

Utilizou-se um equipamento de Análise Elementar, CHN/S da Perkin-Elmer (2400 Series II CHN/S Elemental Analyzer) pertencente a Embrapa Instrumentação. As medidas foram realizadas em duplicata (Figura 19).

Figura 19 - a) Fechamento das cápsulas; b) Cápsulas sendo inserida no carrossel do analisador elementar.



Fonte: http://pubs.usgs.gov/of/2002/of02-371/METHODS/

Para as determinações foram pesados cerca de 10,0 mg (±0,5 mg) de amostras previamente peneiradas a 0,150 mm diretamente em cápsulas de estanho consumíveis. Para isso utilizou-se uma balança da marca OHAUS CORPORATION modelo AR2140.

Em seguida, as cápsulas de estanho foram fechadas manualmente e introduzidas no carrossel que leva ao forno do analisador. O estanho presente na cápsula é utilizado para acelerar o processo de combustão. Determinou-se o teor de carbono das amostras referentes a todos os tempos de incubação e também para cada um dos subprodutos em estudo.

3.3.2 – Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (LIFS)

Para as medidas de LIFS, foi utilizado um sistema portátil, projetado e produzido por pesquisadores da Embrapa Instrumentação com o intuito de compactar todo o aparato de

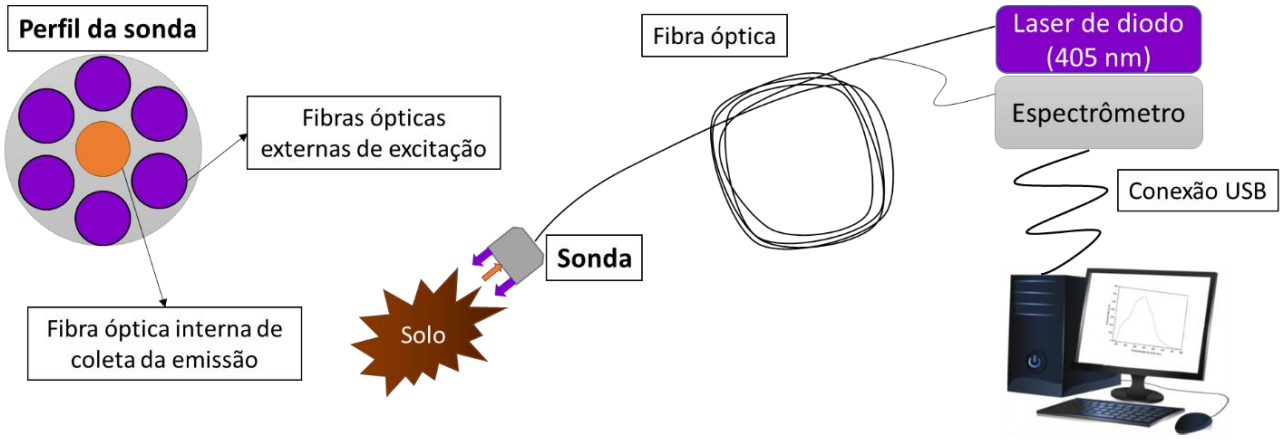
detecção e análise da fluorescência da MOS e permitir medidas em condições laboratoriais (Figura 20).

Figura 20 - Sistema de LIFS portátil com excitação em 405 nm: 1) chave de energia laser; 2) caixa de controle laser; 3) cabo óptico; 4) sonda.

Fonte: Autoria própria

O sistema utiliza um laser de diodo emitindo em 405 nm, com potência máxima de 50 mW, acoplado a um cabo óptico composto por seis fibras ópticas que excitam a amostra e uma fibra óptica central que coleta o sinal de fluorescência do solo (Figura 21).

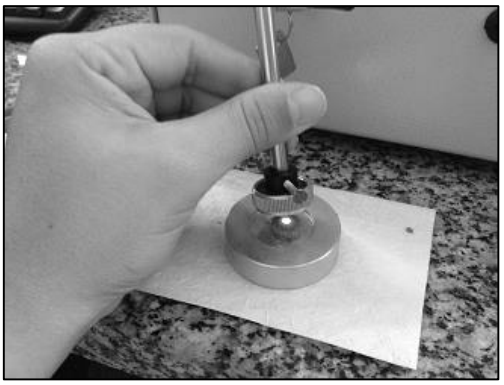
Figura 21 - Esquema do equipamento LIFS portátil.



Fonte: Autoria própria

As medidas são realizadas em pastilhas de solo. A Figura 22 mostra o momento da análise por LIFS, bem como a ponteira onde estão contidas as fibras de emissão e aquisição, apresentados no esquema anterior.

Figura 22 - Análise por LIFS.



Fonte: Autoria própria

Para a avaliação da qualidade da MOS presente nos tratamentos em estudo utilizou-se a metodologia proposta por (MILORI, GALETI *et al.*, 2006) baseado no índice de humificação, o H_{FIL}, definido conforme a *Equação 6* a seguir, onde A_f corresponde a área de fluorescência sob o espectro e C_t é o teor de carbono total, que no estudo foi determinado via Análise Elementar.

$$H_{FIL} = \frac{A_f}{C_t} \qquad \textit{Equação 6}$$

A partir da normalização da área de fluorescência pelo teor de carbono da amostra é enunciado o grau de humificação da MOS ou H_{FIL}, o qual fornece um indicativo do grau de condensação da MOS. Quanto maior é o H_{FIL}, maior é a existência de grupos orgânicos com elétrons π livres, insaturações e anéis aromáticos condensados.

Cada amostra foi analisada em forma de pastilhas, obtendo-se quatro espectros para o cálculo do índice de humificação médio. A janela espectral foi de 430 a 800 nm, com intensidade de 0-4000, tempo de integração 700 ms, box car igual a 5 e número de média igual a 3.

3.3.3 – Espectrometria de Absorção Atômica no Modo Chama (FAAS)

Para a determinação dos metais utilizando a espectroscopia de absorção atômica seja por chama (*Flame Atomic Absorption Spectroscopy*, FAAS), seja por forno de grafite (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy*, GFAAS) fez-se necessário a abertura (digestão) das amostras. O preparo das amostras consiste basicamente na digestão ácida das mesmas, geralmente utilizando ácidos fortes ou mistura de ácidos como água régia ($1HNO_3$: 3HClv v^{-1}) em sistema de aquecimento para abertura da amostra. O uso de HF concentrado também é citado na literatura para a abertura da amostra. É indicado o uso de H_2O_2 com o intuito da eliminação total da MO. Nesse caso optou-se pelo emprego do Método EPA 3050/3052 da Agência de Proteção Ambiental de decomposição ácida (AGENCY, 1996) com algumas adaptações.

Esse método consiste na pesagem de aproximadamente 100 mg de amostra homogeneizada, a qual foi transferida para tubos de ensaio (Figura 23) onde posteriormente foram adicionados 10,0 mL de HNO_3 concentrado (PA, 65%). Os tubos de ensaio foram levados a um bloco digestor da marca SOLAB modelo SL-25/40 dentro de uma capela, onde realizou-se o aquecimento a 150 ºC durante aproximadamente 8 horas até que não fosse possível visualizar o desprendimento de nenhum vapor marrom. Essa etapa teve a finalidade de digerir toda a MO.

Terminada a primeira etapa, desligou-se o bloco digestor e aguardou-se o resfriamento dos tubos. Com os tubos à temperatura ambiente, adicionou-se 3 mL de H_2O_2 (PA, 30%) e religou-se o bloco, programando-o para o aquecimento a 150 ± 5 °C durante mais aproximadamente 4 horas até a ausência de gases no interior dos tubos. Essa etapa teve como intuito de oxidar o restante da MO.

Figura 23 - Tubo de ensaio utilizado para a digestão da amostra

Fonte: Autoria própria

Após o segundo aquecimento, desligou-se o bloco novamente e esperou-se o esfriamento completo dos tubos de ensaio. Depois de resfriados, as amostras foram filtradas utilizando papel de filtro qualitativo de diâmetro de 125 mm e o filtrado foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL, aferindo-se o volume indicado com água deionizada (Milli-Q®).

Por fim, o filtrado foi transferido para tubos Falcon, previamente identificados, os quais foram encaminhados para as análises de absorção atômica utilizando um equipamento modelo PinAAcle 900T (THGA+Flame) da PerkinElmer.

Para as análises, primeiramente levantou-se uma curva de calibração a partir de soluções de concentrações conhecidas de cada elemento a ser quantificado nas amostras e posteriormente fez-se a quantificação das amostras propriamente ditas, utilizando as condições padrões conforme recomendado pelo fabricante, tais como estequiometria dos gases (vazão dos gases oxidante e redutor), taxa de aspiração, tamanho do queimador (50 ou 100 mm).

Por se tratar de medidas com grande consumo de reagentes químicos, optou-se por realizar as medidas de AAS nos tempos T0 (5 dias), T1 (15 dias), T6 (180 dias) e T9 (360 dias) para os estudos dos teores dos metais presentes no total de 84 amostras. Essas medidas foram feitas em triplicata pelo equipamento, onde considerou-se a média dos 3 valores para cada amostra.

Também foram realizadas as digestões para a caracterização dos subprodutos utilizados na incubação. Nas quantificações foram avaliados os mesmos elementos quantificados para as amostras de solo.

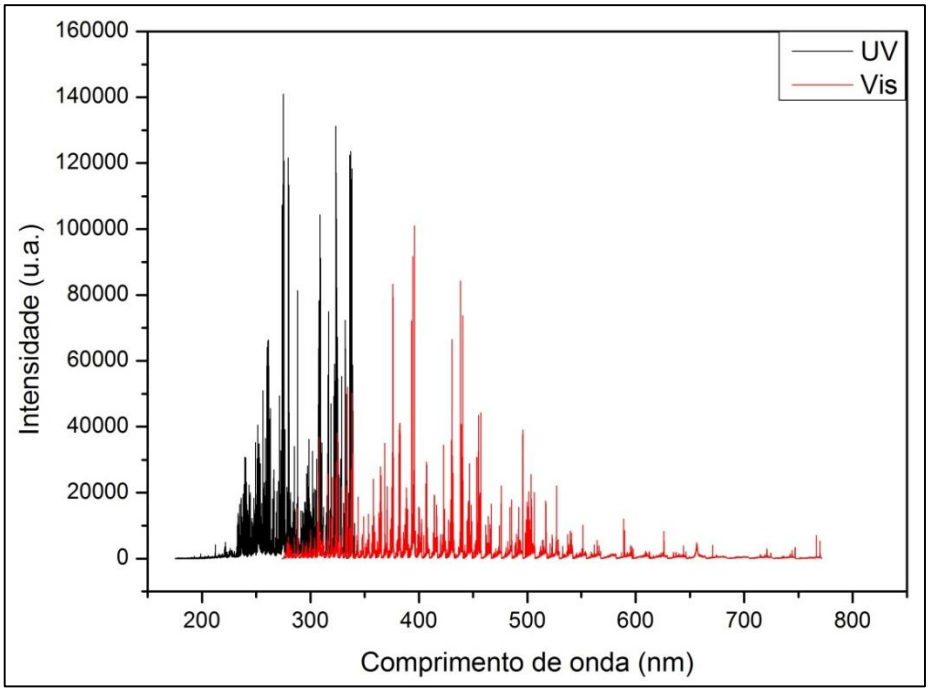
Para validar o método de referência, realizou-se determinações dos elementos em estudo em amostras de material certificado (CRM), considerando valores de recuperação entre 80-120%.

3.3.4 – Espectroscopia de Emissão em Plasma Induzido por Laser (LIBS).

Nesse trabalho, as amostras foram submetidas à análise em um sistema LIBS-DP de bancada que utiliza um sistema constituído por dois diferentes sistemas laser. Um laser de Nd:YAG pulsado, “Q-switched” (Quantel – Ultra 50) com comprimento de onda centrado em 1064 nm, energia máxima por pulso 50 mJ, duração de pulso 8 ns, diâmetro do feixe do laser em torno de 0,5 mm e taxa de repetição de até 20 Hz. O outro laser é um Nd:YAG pulsado, “Q-switched” (Quantel – Brillian) com comprimento de onda centrado em 532 nm, energia máxima por pulso 180 mJ (potencial nominal), duração de pulso 4 ns, diâmetro do feixe do laser em torno de 0,6 mm e taxa de repetição de até 10 Hz.

Para a detecção e seleção de comprimentos de onda o sistema conta com espectrômetro ARYELLE 400-Butterfly. O espectrômetro “echelle” opera em duas faixas espectrais de 190 a 330 nm e de 275 a 750 nm (Figura 24), com resolução espectral de 13-24/29-80 pm, respectivamente, e possui uma CCD intensificada com 1024 x 1024 pixels.

Figura 24 - Espectros típico de LIBS DP para solos



Fonte: Autoria própria

Para o controle temporal entre os dois lasers, e entre o segundo pulso do laser e o sistema de detecção, utiliza-se um gerador de atraso de pulso com 8 canais (Quantum Composers – modelo 9618). O equipamento LIBS-DP utilizado nesse trabalho foi montado em 2014 sendo o primeiro sistema DP do Brasil, sendo assim um diferencial da estrutura existente na Embrapa Instrumentação.

Para as medidas com LIBS foram utilizadas pastilhas das amostras de solo, partindo das mesmas moídas a 100 mesh. Foram adquiridos 30 espectros para cada amostra a partir 5 pulsos acumulados. Os demais parâmetros utilizados serão discutidos nos resultados.

3.3.4.1 - Pré-tratamentos espectrais

Por conta da boa linearidade da linha de base não foi realizada nenhuma correção de linha de base ou remoção de off-set dos espectros. Já para por conta da existência de espectros

menos representativos (*outliers*), faz-se necessário a utilização de artifícios e critérios de exclusão desses disparos.

Para tal exclusão foram avaliados dois métodos. O primeiro foi utilizado por (MARANGONI, SILVA *et al.*, 2016) para o tratamento dos dados obtidos por LIBS para determinações de fósforo (P) em fertilizantes, chamado de Spectral Angle Mapper (SAM) (KESHAVA, 2004). Nesse método é levada em consideração a ortogonalidade entre os i-ésimos espectros e o espectro médio obtidos para cada amostra, ou seja, é calculado o valor do cosseno do ângulo ($\cos(\theta)$) entre os espectros, ponto a ponto, e caso o resultado seja próximo a 0, conclui-se que o i-ésimo espectro é ortogonal à média; caso o resultado seja próximo a 1, conclui-se que o i-ésimo espectro é paralelo à média.

Já o segundo método proposto por (LEYS, LEY *et al.*, 2013) trabalha com o desvio absoluto ao redor da mediana da distribuição (M), para calcular o parâmetro MAD (median absolute deviation). A partir deste valor, compara-se cada ponto da distribuição (x_i) com o parâmetro de sensibilidade de exclusão (T), o qual pode assumir três valores, 3 – pouco sensível, 2,5 – moderadamente sensível e 2 – muito sensível, conforme a *Equação 7*:

$$M - T * MAD < x_i < M + T * MAD,\ T \in \{2, 2.5, 3\} \qquad \textit{Equação 7}$$

No entanto para aplicação desse método para os conjuntos espectrais (30 espectros por amostra), considerou-se cada ponto espectral (comprimentos de onda) como sendo uma distribuição isolada, logo a *Equação 7* é calculada para cada ponto do espectro. Ao fim dos cálculos, verifica-se se pelo menos 95% dos pontos (x_i) do espectro obedecem essa equação. Caso positivo, o espectro é aceito na distribuição e incluso no cálculo do espectro médio; se não, o espectro é considerado *outlier*.

3.4 - Análise estatística

Para a comparação dos resultados dos teores de C e H_{FIL} nas amostras, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com um fator. Antes de aplicar a comparação das médias pelo teste Tukey é necessário a observância dos seguintes pressupostos:

- O conjunto de dados apresenta n grupos de observações, sendo os grupos independentes entre si;

- Cada grupo de observação deve provir de uma população com distribuição normal;

- A variância das populações n deve ser a mesma (homogeneidade das variâncias).

O teste Tukey foi aplicado com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para comparação das médias dos tratamentos avaliados.

Para a detecção de possíveis *outliers* nas análises de AAS, levou-se em consideração o desvio padrão (SD) e o desvio padrão relativo (RSD (%)) das medidas, assumindo que os RSD fossem no máximo de 5%.

Já para LIBS, os espectros obtidos foram submetidos aos testes de remoção de *outliers* para o método SAM e método MAD.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DICUSSÕES

4.1 – Avaliação dos subprodutos como subprodutos

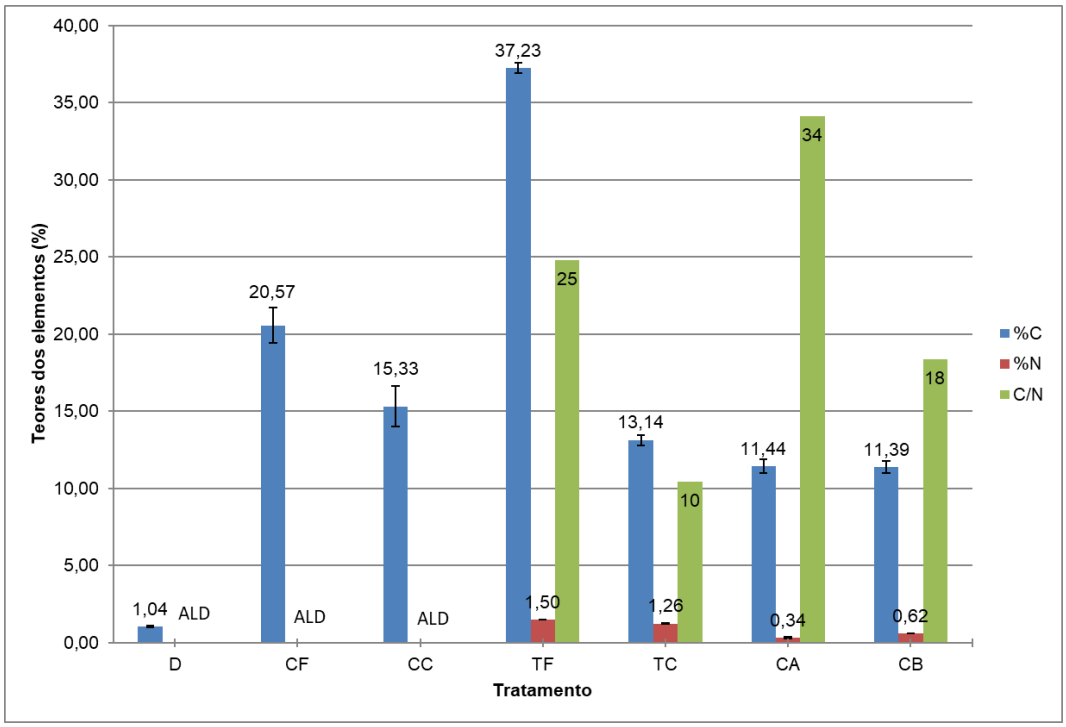
4.1.1 – Análise elementar

Foi possível quantificar os teores de C e N apenas nos subprodutos. Nas amostras de solo foi possível quantificar apenas os teores de C, já que por conta da adição dos subprodutos ao solo e, consequentemente da diluição, o teor de N se encontrava abaixo dos LOD e LOQ do equipamento.

4.1.1.1 – Subprodutos

Na Figura 25 são apresentados os teores médios de C e N, bem como a relação C/N para os 6 subprodutos utilizados no experimento e o solo inicial (D). Pode se observar que os teores de C e N em todos os subprodutos são bem maiores que no solo inicial.

Figura 25 - Teores de C e N médios para os diferentes subprodutos *in natura*.



Fonte: Autoria própria. *ALD – Abaixo do limite de detecção. **D**: Testemunha, **CF**: Cinza Fresca, **CC**: Cinza Compostada, **TF**: Torta Fresca, **TC**: Torta Compostada, **CA**: Composto A (50% de torta – 50% cinza), **CB**: Composto B (75% de torta – 25% cinza).

Não foi possível quantificar N nos tratamentos CF e CC, pois os valores estão abaixo do LOD da técnica utilizada. Esses tratamentos são oriundos da etapa de combustão do bagaço da cana-de-açúcar nas caldeiras para cogeração de energia. Pesquisadores citam que o teor médio de N no bagaço é baixo, da ordem de 0,3%. Possivelmente esse conteúdo perdeu-se na etapa de combustão (MEUNCHANG, PANICHSAKPATANA *et al.*, 2005).

No entanto, comparando-se TF e TC, é possível notar que os maiores teores de C e N estão presentes nos subprodutos frescos, sem compostagem prévia, mostrando assim que há perda de C devido ao processo de compostagem, ou seja, a relação C/N tende a diminuir com a compostagem. Essa relação indica o quão a MO é suscetível à degradação ou mineralização e a queda de 25 em TF para 10 em TC, mostra que houve decomposição da MO, bem como um adequado grau de estabilização (SEN e CHANDRA, 2007).

Os dados apresentados na Figura 25 mostram também que as maiores concentrações de N foram obtidas para TF. Houve um pequeno decréscimo no teor de N na TC. Este comportamento sugere que o C do solo foi convertido a CO_2 e a fixação de nitrogênio neste tratamento está aumentando devido ao processo de compostagem (MANZONI, JACKSON *et al.*, 2008; VAZ, LOPES *et al.*, 2015).

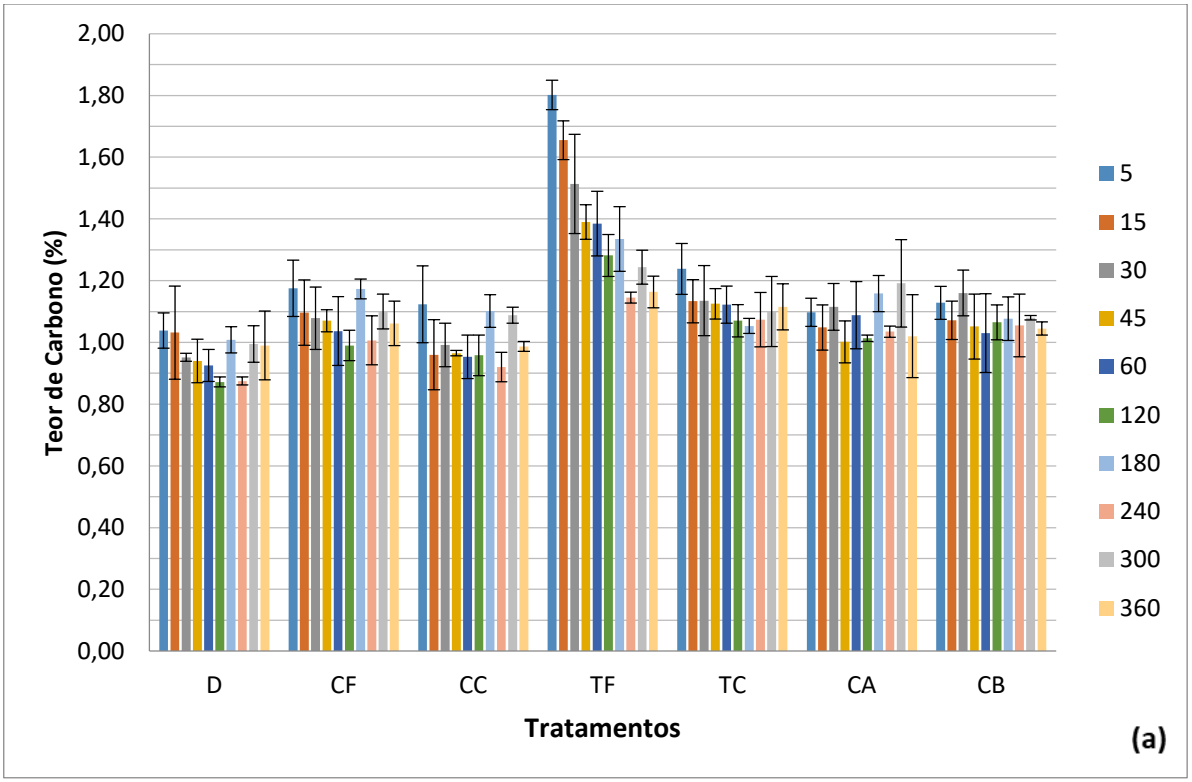
Por fim, CB apresentou um aumento de aproximadamente duas vezes no teor de N em relação ao CA, onde que, enquanto CA foi compostado na proporção 50% TF : 50% CF, CB foi compostado na proporção de 75%TF : 25%CF. Logo, em CB com 15% a mais de TF, mostrou um acréscimo da concentração de N à mistura.

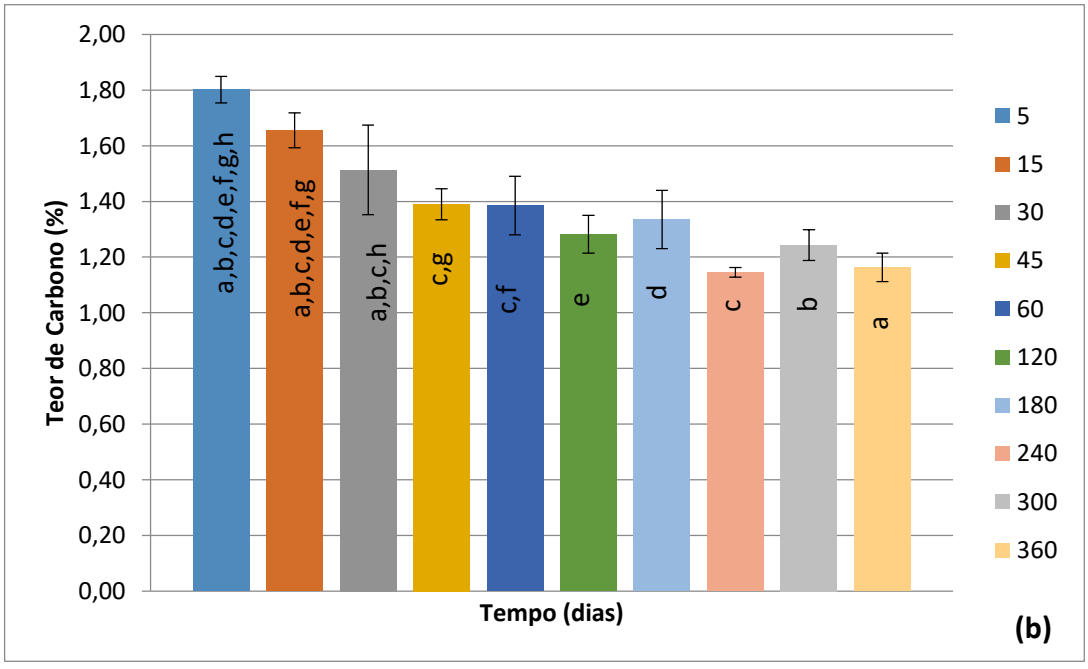
No geral, os teores de C e N obtidos no trabalho se mostraram próximos aos obtidos na literatura em amostras de TF (MEUNCHANG, PANICHSAKPATANA *et al.*, 2005; KHWAIRAKPAM e BHARGAVA, 2009; PRADO, CAIONE *et al.*, 2013; FIRME, VILLANUEVA *et al.*, 2014; TELLECHEA, MARTINS *et al.*, 2016). A composição dos subprodutos está relacionada com vários fatores, tais como espécie da cana-de-açúcar, tipo de solo onde a cultura é feita e maturação da cana (CORTEZ, MAGALHAES *et al.*, 1992).

4.1.1.2 – Amostras de solo incubado

Na Figura 26, são apresentados os resultados dos teores de C médio nas amostras da incubação de 0 a 360 dias, levando em consideração as 3 repetições da incubação.

Figura 26 – Teores de C médio ao longo do tempo para a) todos os tratamentos; b) TF.





Fonte: Autoria própria. *Letras iguais indicam as comparações em que há diferença estatisticamente significativa. **D**: Testemunha, **CF**: Cinza Fresca, **CC**: Cinza Compostada, **TF**: Torta Fresca, **TC**: Torta Compostada, **CA**: Composto A (50% de torta – 50% cinza), **CB**: Composto B (75% de torta – 25% cinza).

A partir do gráfico da Figura 26a é possível notar um decaimento mais acentuado nos teores médios de C para os tratamentos D, CF e TF ao longo do tempo até 120 dias. Esse comportamento se mostrou mais notável para os tratamentos onde não houve compostagem prévia. Pode-se justificar esse comportamento por conta da presença de uma MO mais fresca adicionada ao solo. A atividade microbiana se torna mais ativa devido a essa MO menos humificada e passível de decomposição. A partir de 180 dias essa tendência se torna menos visível e a concentração de C se torna mais constante com o tempo, fato este confirmado a partir da análise estatística.

Já nos tratamentos CC, TC, CA e CB não foram observadas grandes tendências com o passar do tempo, ou seja, a entrada dessa MO através da aplicação dos subprodutos na dosagem de 40 Mg ha^{-1} não teve amplos impactos ao solo do ponto de vista de C.

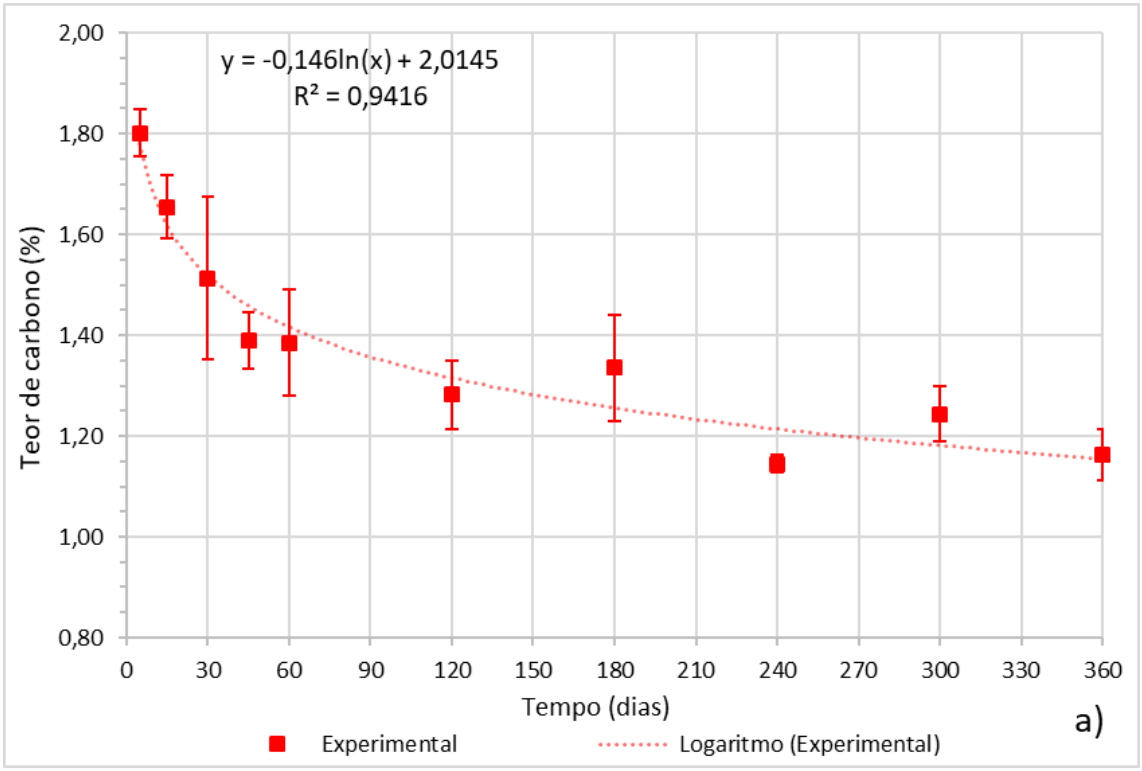
Utilizando o teste estatístico Tukey (α=0,05) avaliou-se a tendência dos valores de C entre os tempos de incubação ao longo de todo o experimento. Os resultados do teste mostraram que não há diferença significativa dos teores de C entre os tempos de incubação ao longo do experimento para todos os tratamentos exceto TF.

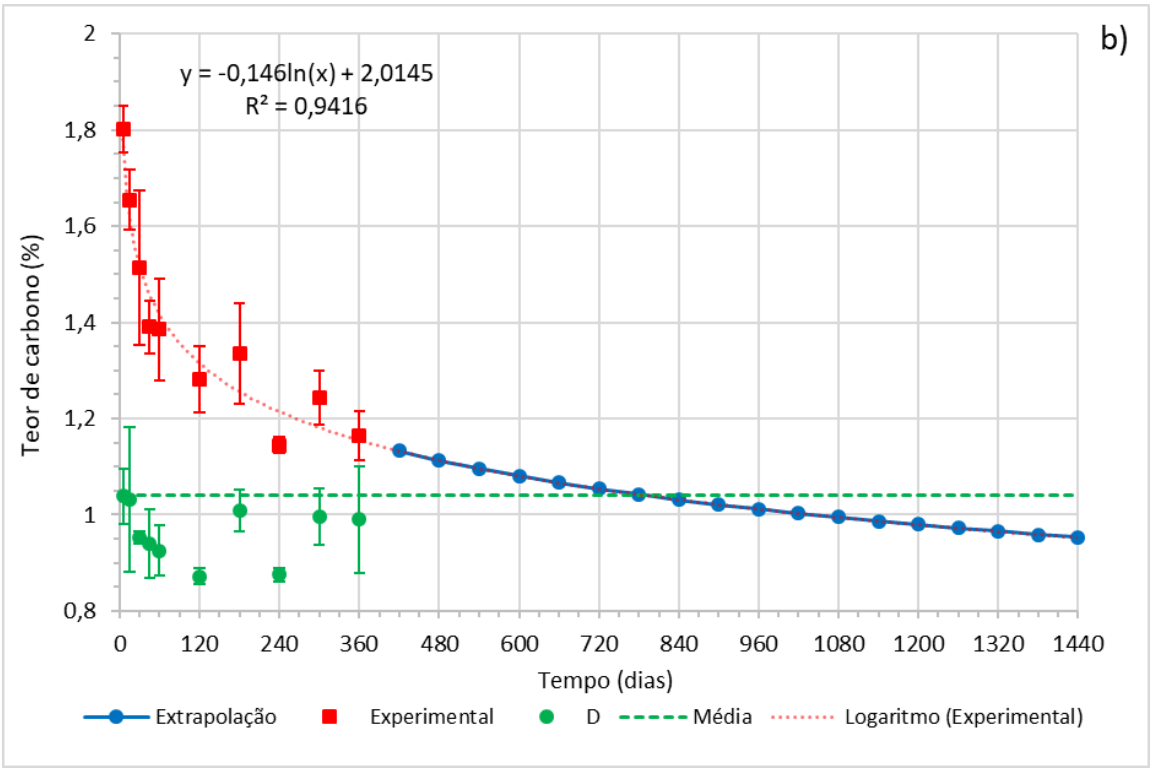
Exclusivamente para o tratamento TF, foi possível notar que há diferença significativa dos teores médios de C entre o início e o final do experimento, mostrando assim que o decaimento nos teores de C é mais enfático para esse tratamento no qual a porcentagem de MO inicial adicionada é maior (Figura 26b).

Para um estudo mais detalhado do comportamento do decaimento dos teores de C com o tempo no tratamento TF, realizou-se um ajuste exponencial (y = ln x) com o intuito de avaliar essa tendência. O resultado desse ajuste é mostrado na Figura 27. A partir da Figura 27a e pelo coeficiente de determinação (R^2) próximo de 0,95 pôde-se confirmar o decaimento exponencial dos teores de C para as amostras de TF.

Com o intuito de estender esse decaimento à frente do tempo experimental, utilizou-se a equação da curva ($y = -0{,}146\ ln\ (x) + 2{,}0145$, onde y é teor de C em % e x é o tempo em dias) para determinar o tempo necessário para que o efeito *priming* ocorre-se no tratamento TF. Esse decaimento extrapolado é mostrado Figura 27b, onde é possível observar que, supondo que o experimento continuasse e o decaimento de TF se comportasse da mesma forma, em aproximadamente 720 dias de experimento o teor de C nesse tratamento teria alcançado o teor de C inicial da testemunha.

Figura 27 – Decaimento exponencial dos teores de C para TF: a) Dados experimentais; b) Extrapolação da curva ajustada.





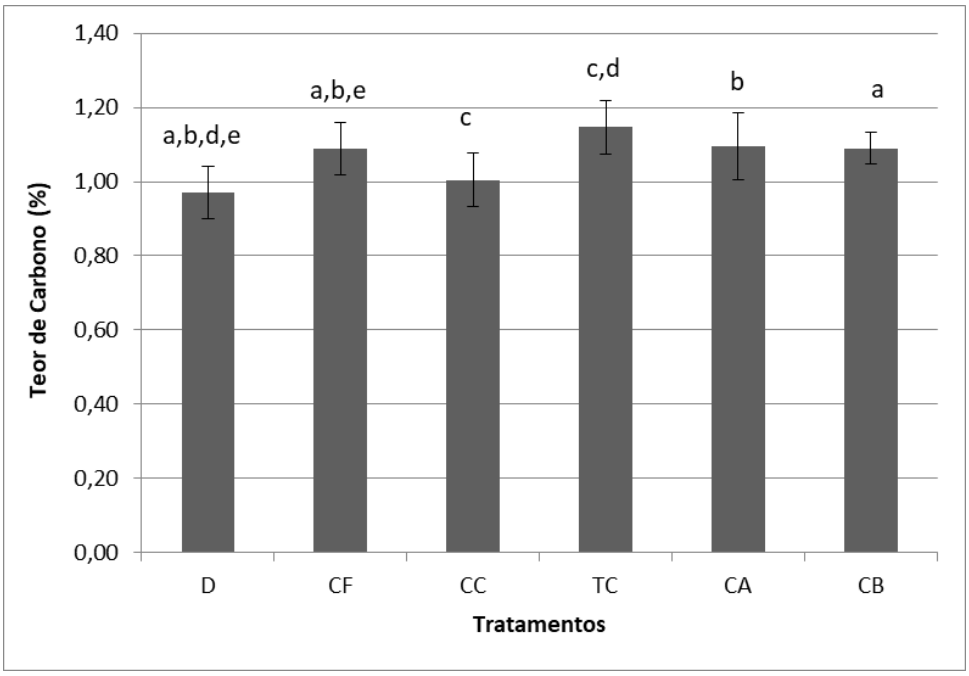
Fonte: Autoria própria.

A partir dessa simulação pôde-se verificar que a adição de TF ao solo em dose proporcional a 40 Mg ha^{-1} causaria a possível ocorrência do efeito *priming* a partir de 720 dias após a aplicação do subproduto, por conta do alto teor de C. Esse alto aporte de MO estimularia a atividade microbiana do solo, resultando assim no consumo não apenas da mesma, mas também a MO inicial do solo.

Tendo em vista o comportamento constante ao longo do tempo para os demais tratamentos, é possível considerar os teores médios para cada tratamento ao longo de todo o experimento (Figura 28).

Para avaliação estatística, o teste Tukey (α=0,05) foi executado para os dados de C médio ao longo de todo experimento, resultando que há diferenças estatisticamente significativas entre todos os tratamentos e a testemunha exceto para CC, mostrando assim que houve impacto no solo do ponto de vista de C com a adição da maioria dos subprodutos (Figura 28).

Figura 28 - Teor de C médio ao longo de todo o experimento, considerando os 10 tempos de incubação



Fonte: Autoria própria. *Letras iguais indicam as comparações em que há diferença estatisticamente significativa. **D**: Testemunha, **CF**: Cinza Fresca, **CC**: Cinza Compostada, **TF**: Torta Fresca, **TC**: Torta Compostada, **CA**: Composto A (50% de torta – 50% cinza), **CB**: Composto B (75% de torta – 25% cinza).

4.1.1.3 – Estimativas entre os valores teóricos e valores práticos

Para comparar os valores de carbono nas amostras da incubação no tempo inicial (T0) (valores práticos) com o carbono presente em cada um dos subprodutos (valores teóricos), realizou-se a seguinte estimativa. Sabendo-se que no T0 a concentração média de carbono é de 1,04 %, logo, em 300 g de solo, estão presentes 3,115 g de carbono. O mesmo cálculo foi realizado para cada um dos subprodutos e é apresentado na Tabela 2.

A partir dos valores teóricos estimados, ou seja, a quantidade de carbono que deveria estar presente caso o rendimento fosse de 100% e os valores de carbono médio quantificado para o T0, tem-se então uma avaliação dos desvios na etapa de montagem do experimento.

Tabela 2 - Estimativa entre os valores práticos e teóricos para T0.

Tratamento	Cmédio (CHN) (%)	Massa inicial (g)	Massa de C (g)	Teor de C (solo + subproduto) (g)	Teor de C no pote (%)	Cmédio no T0 (CHN) (%)	Diferença (%)
D	1,04	300,00	3,12	-	-	-	-
CF	20,6	6,00	1,23	4,35	1,42	1,22	16,98
CC	15,3	6,00	0,92	4,03	1,32	1,12	14,81
TF	37,2	6,00	2,23	5,35	1,75	1,80	3,07
TC	13,1	6,00	0,79	3,90	1,28	1,24	2,92
CA	11,4	6,00	0,69	3,80	1,24	1,28	3,04
CB	11,4	6,00	0,68	3,80	1,24	1,13	9,10

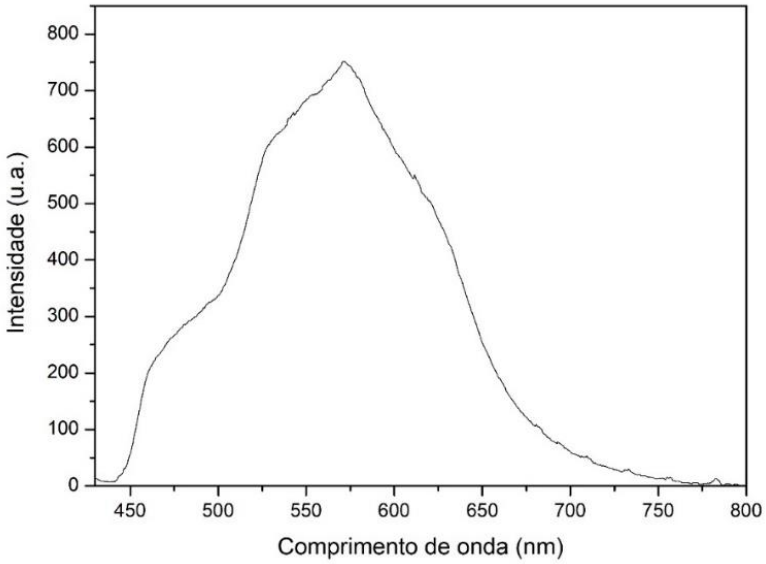
Fonte: Autoria própria. **D**: Testemunha, **CF**: Cinza Fresca, **CC**: Cinza Compostada, **TF**: Torta Fresca, **TC**: Torta Compostada, **CA**: Composto A (50% de torta – 50% cinza), **CB**: Composto B (75% de torta – 25% cinza).

Os resultados mostraram que para CF e CC a diferença entre os valores teóricos e os valores práticos foram os maiores, em torno de 16%. Já para os demais tratamentos a diferença entre os valores teóricos e práticos não ultrapassou 10%, ou seja, os teores de C presentes nos subprodutos foram devidamente incorporados proporcionalmente ao solo durante a montagem do experimento.

4.1.2 – Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (LIFS)

A seguir, na Figura 29, é mostrado um espectro típico de solos utilizando LIFS.

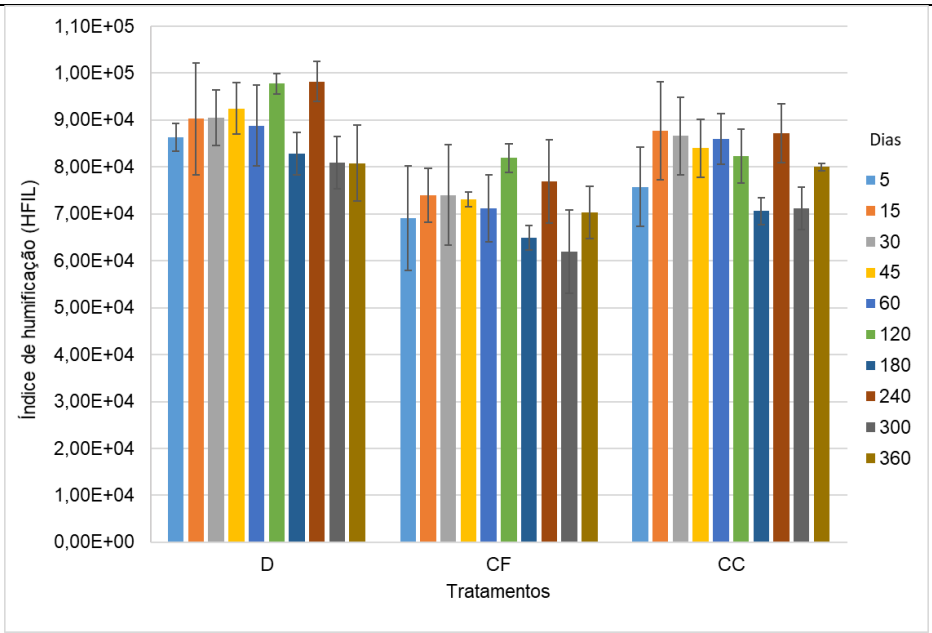
Figura 29 - Espectro de LIFS típico para amostras de solos, com excitação em 405 nm.



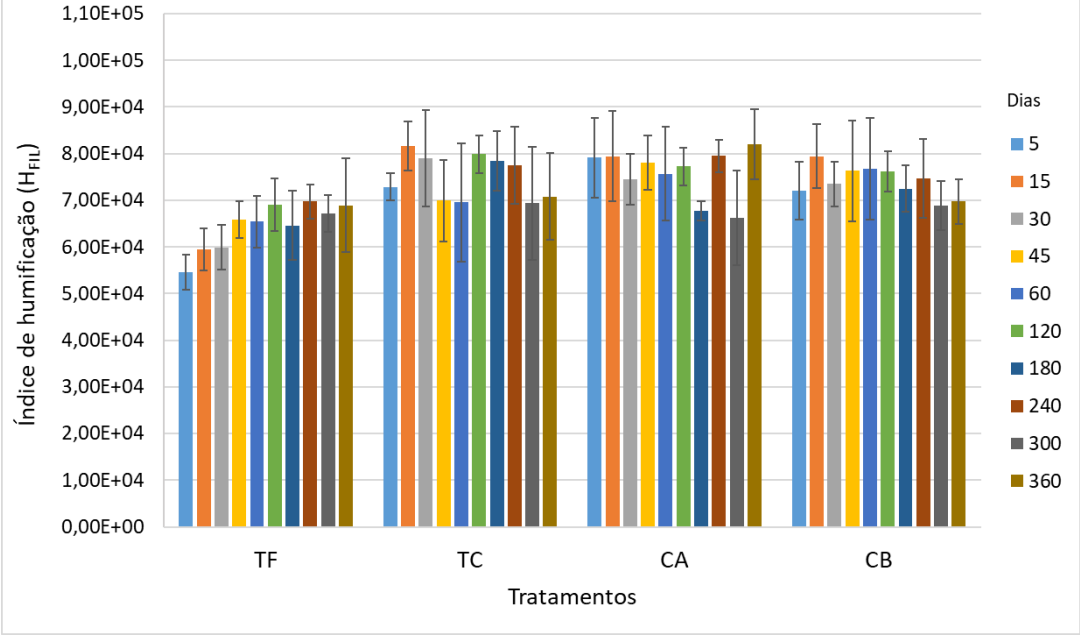
Fonte: Autoria própria

No espectro LIFS pode-se observar um ombro em torno de 462 nm e intensa excitação em 572 nm referente a anéis aromáticos e alta conjugação eletrônica por conta de grupos carbonílicos e carboxílicos, além de ligações organometálicas (TIVET, DE MORAES SÁ *et al.*, 2013). Os índices de humificação (H_{FIL}) médios são apresentados nas Figura 30a e b, onde foram considerados as 3 repetições da incubação para o cálculo do H_{FIL} médio.

Figura 30 - H_{FIL} médio para os diferentes tratamentos ao decorrer do tempo.



a)



b)

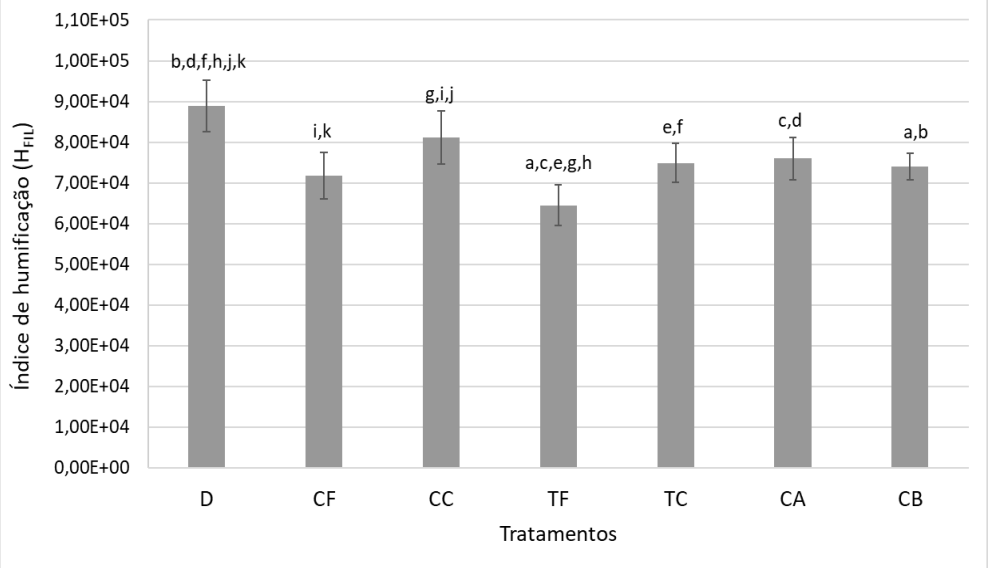
Fonte: Autoria própria. **D**: Testemunha, **CF**: Cinza Fresca, **CC**: Cinza Compostada, **TF**: Torta Fresca, **TC**: Torta Compostada, **CA**: Composto A (50% de torta – 50% cinza), **CB**: Composto B (75% de torta – 25% cinza).

Os resultados de LIFS mostraram que, para todos os tratamentos, não houve diferença significativa utilizando o teste de Tukey (α=0,05) para os valores médio do índice de humificação entre os tempos de incubação durante todo o experimento. Este fato pode estar associado à entrada de material orgânico mais estável, ou seja, que já sofreu processos degradativos em sua estrutura, como estruturas químicas mais condensadas e pouco suscetíveis à ação microbiológica (SEGNINI, XAVIER *et al.*, 2019; TADINI, NICOLODELLI et al., 2015).

Particularmente no caso do TF, verificou-se um aumento exponencial do índice de humificação, seguindo a tendência inversa do decaimento do conteúdo de C. Portanto, o solo tratado com TF tendeu a ter sua MO estabilizada ao longo do tempo, ou seja, ocorrendo maior estabilização química em sua estrutura a qual irá dificultar sua degradação e consequentemente a perda do carbono para atmosfera. Esse fato não foi tão enfatizado para os demais tratamentos devido aos outros subprodutos não apresentarem compostos orgânicos tão instáveis quanto a estrutura química de TF.

Levando em conta o resultado obtido no teste Tukey, em que não há diferença estatística entre os valores de H_{FIL} entre os tempos de incubação ao longo do experimento, pode-se adotar um valor médio de H_{FIL} para cada um dos tratamentos (Figura 31).

Figura 31 - H_{FIL} médio ao longo do experimento



Fonte: Autoria própria. *Letras iguais indicam as comparações em que há diferença estatisticamente significativa. **D**: Testemunha, **CF**: Cinza Fresca, **CC**: Cinza Compostada, **TF**: Torta Fresca, **TC**: Torta Compostada, **CA**: Composto A (50% de torta – 50% cinza), **CB**: Composto B (75% de torta – 25% cinza).

É possível notar que os tratamentos TF e CF apresentaram os menores valores de H_{FIL}, pois ambos os subprodutos não passaram pelo processo prévio de compostagem quando comparados a TC e CC, ou seja, não houve a etapa de maturação do subproduto. Já, CA e CB apresentaram índices H_{FIL} muito próximos, logo a concentração dos subprodutos nos compostos não influenciou no índice médio de humificação. O maior valor médio de H_{FIL} foi observado para o tratamento controle (D) no qual não houve adição de nenhum tipo de composto. A adição de subprodutos, por mais que mostrasse uma certa estabilidade e constância nos índices de humificação da MOS após a aplicação, ainda sim levou ao decréscimo dos índices de humificação em relação ao controle.

Logo, a partir dos resultados apresentados, ressalta-se a potencial da técnica LIFS como ferramenta de avaliação da estabilidade estrutural da MOS após a adição dos subprodutos, de maneira eficiente, limpa, rápida e de baixo custo, além da vantagem de poder se trabalhar com amostras de solo inteiro.

4.1.3 – Espectrometria de Absorção Atômica no Modo Chama (FAAS)

4.1.3.1 – Subprodutos

Primeiramente foram caracterizados os subprodutos do ponto de vista dos metais utilizando FAAS. Inicialmente, como citados nos objetivos do trabalho, foram estudados Cu, Fe, K, Mg, Mn, Zn, Cr e Pb. Para a quantificação dos elementos tanto nas amostras quanto nos subprodutos, construiu-se curvas de calibração utilizando soluções padrões conforme mostradas na Tabela 3. Para garantir a segurança dos resultados, foram calculados os LOD e LOQ e são apresentados na Tabela 4.

Tabela 3 - Curvas de calibração para determinações via FAAS

Elemento	**Faixa de concentração (mg/L)**		**Slope (*m*)**	**Intercept**	**Coeficiente de correlação**
	Mínimo	**Máximo**			
Cu	0,10	5,00	0,148	0,000	0,9990
Fe	1,00	50,00	0,004	0,000	0,9989
K	0,50	15,00	0,026	0,000	0,9987
Mg	0,20	4,00	0,317	0,000	0,9948
Mn	0,10	5,00	0,131	0,000	0,9988
Zn	0,10	5,00	0,181	0,000	0,9922
Cr	0,10	10,00	0,022	0,000	0,9933
Pb	0,50	20,00	0,020	0,000	0,9981

Fonte: Autoria própria

Tabela 4 - LOD e LOQ das curvas de calibração para os elementos quantificados

Elemento	**Concentração média do Branco (mg/L)**	**Branco SD**	**Slope (*m*)**	**LOD (mg/L)**	**LOQ (mg/L)**
Cu	0,03	0,014	0,14	0,3	0,95
Fe	0,08	0,004	0,004	3,5	11,8
K	0,22	0,002	0,03	0,2	0,7
Mg	0,3	0,003	0,32	0,03	0,1
Mn	0,01	0,0002	0,13	0,005	0,02
Zn	0,06	0,002	0,18	0,03	0,1
Cr	0,02	0,0003	0,023	0,04	0,1
Pb	0,01	0,0002	0,02	0,03	0,1

Fonte: Autoria própria

A partir das curvas de calibração levantadas, realizou-se as análises para cada um dos elementos em estudo. As massas de solo pesadas no início da digestão e os resultados médios em mg/L de solução para cada tratamento (trat.) são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 - Concentração dos elementos nos subprodutos (mg/L)

	Massa	**Concentração em mg/L**							
Trat.	**(mg)**	**Cu**	**Fe**	**K**	**Mg**	**Mn**	**Zn**	**Cr**	**Pb**
CF	134,2	0,0380 ± 0,0006	25,36 ± 0,05	55,1 ± 0,1	30,70 ± 0,01	1,306 ± 0,004	0,42 ± 0,01	0,18 ± 0,02	0,029 ± 0,005
CC	122,9	0,0000 ± 0,0003	20,3 ± 0,6	22,51 ± 0,03	21,78 ± 0,01	0,97 ± 0,01	0,3030 ± 0,0007	0,211 ± 0,004	0,03 ± 0,01
TF	133,3	0,0020 ± 0,0001	14,1 ± 0,4	9,98 ± 0,06	20,44 ± 0,04	1,03 ± 0,01	0,450 ± 0,005	0,048 ± 0,003	0,021 ± 0,003
TC	143,1	0,0570 ± 0,0007	37,5 ± 0,2	5,9 ± 0,7	25,42 ± 0,01	2,47 ± 0,02	0,746 ± 0,003	0,301 ± 0,002	0,08 ± 0,08
CA	138,8	0,000 ± 0,001	24,2 ± 0,3	13,7 ± 0,5	17,52 ± 0,03	1,115 ± 0,003	0,329 ± 0,002	0,301 ± 0,006	0,056 ± 0,002
CB	126,2	0,013 ± 0,001	29,79 ± 0,06	10,89 ± 0,07	20,23 ± 0,01	1,339 ± 0,003	0,4560 ± 0,0007	0,196 ± 0,008	0,055 ± 0,012

Fonte: Autoria própria. **D**: Testemunha, **CF**: Cinza Fresca, **CC**: Cinza Compostada, **TF**: Torta Fresca, **TC**: Torta Compostada, **CA**: Composto A (50% de torta – 50% cinza), **CB**: Composto B (75% de torta – 25% cinza).

Como as medidas são feitas em triplicata no equipamento, logo são obtidas as concentrações médias e os desvios padrão (SD) (Tabela 5) . A partir dos desvios padrão (SD) obtidos pelas triplicatas, optou-se por calcular também os desvios padrões relativos (RSD) por questão visual e didática já que os SD são muito baixos. Os dados são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Desvios padrões relativos dos valores da Tabela 5

	Massa de	**RSD (%)**							
Tratamento	**solo (mg)**	**Cu**	**Fe**	**K**	**Mg**	**Mn**	**Zn**	**Cr**	**Pb**
CF	134,2	1,6	0,2	0,2	0,04	0,3	3,23	9,8	19
CC	122,9	-	0,3	0,1	0,06	1,1	0,23	1,7	31
TF	133,3	5	0,3	0,6	0,2	1,1	1,05	6,7	14
TC	143,1	1,2	0,4	1,2	0,02	0,65	0,36	0,8	100
CA	138,8	-	1,4	3,8	0,2	0,3	0,52	2,1	4
CB	126,2	9,2	0,2	0,6	0,06	0,2	0,15	3,9	22

Fonte: Autoria própria. **D**: Testemunha, **CF**: Cinza Fresca, **CC**: Cinza Compostada, **TF**: Torta Fresca, **TC**: Torta Compostada, **CA**: Composto A (50% de torta – 50% cinza), **CB**: Composto B (75% de torta – 25% cinza).

Os maiores RSD das medidas foram apresentados para os elementos Cu, Cr e Pb. Para a validação dos valores, foram levados em consideração os LOD e LOQ obtidos para as curvas de calibração utilizadas nas quantificações. Baseado nos LOD e LOQ obtidos, as concentrações de Cu, Cr e Pb para alguns tratamentos (destacadas em negrito na Tabela 7) não puderam ser validadas, pois os resultados ficaram próximos ou abaixo dos LOQ. Além disso, os valores quantificados para esses elementos estão entre (ou próximos) o zero e o primeiro ponto da curva de calibração, gerando assim uma extrapolação da curva de calibração para a quantificação desses elementos.

Para os demais elementos, foi realizada a conversão de mg/L de solução para mg/kg de subproduto já que as análises partiram de uma massa específica de solo para cada amostra como mostrado na Tabela 7.

Tabela 7 - Concentração de metais nos subprodutos (mg/kg)

Tratamento	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Zn	Cr	Pb
CF	**14,2 ± 0,2**	9450 ± 18	20543 ± 40	11440 ± 5	487 ± 1	157 ± 5	66 ± 7	**11 ± 2**
CC	**ND**	8255 ± 24	9160 ± 11	8860 ± 5	396 ± 5	123,3 ± 0,3	**86 ± 2**	**11 ± 3**
TF	**0,75 ± 0,04**	5281 ± 15	3743 ± 21	7667 ± 14	385 ± 4	169 ± 2	**18 ± 1**	**8 ± 1**
TC	**19,9 ± 0,2**	13106 ± 64	2054 ± 26	8882 ± 2	862 ± 6	261 ± 1	105 ± 1	**ND**
CA	**ND**	8721 ± 120	4930 ± 190	6311 ± 11	408 ± 1	118,5 ± 0,6	108 ± 2	20 ± 1
CB	**5,2 ± 0,5**	11803 ± 25	4315 ± 27	8,015 ± 5	531 ± 1	180,7 ± 0,3	78 ± 3	22 ± 5

Fonte: Autoria própria. *ND – Não detectado. **D**: Testemunha, **CF**: Cinza Fresca, **CC**: Cinza Compostada, **TF**: Torta Fresca, **TC**: Torta Compostada, **CA**: Composto A (50% de torta – 50% cinza), **CB**: Composto B (75% de torta – 25% cinza).

A partir dos resultados da tabela acima, concluiu-se que a TC é possui altos teores de Fe, Mn e Zn. Já para K as maiores concentrações estão em CF. Mg é encontrado em intervalos de $6{,}3x10^3$ a $1{,}14x10^4$ mg/kg e foi o elemento que apresentou menor amplitude entre os tratamentos. Ponderando as formulações NPK dos fertilizantes comerciais, há a possibilidade de utilizar-se a associação de TF, onde é encontrada a maior concentração de N, com CF, onde está presente a maior concentração de K.

4.1.3.2 – Amostras de solo incubado

Já para as amostras de solo incubado, foram realizadas análises de FAAS dos tempos T0 (5 dias), T1 (15 dias), T6 (180 dias) e T9 (360 dias) para os elementos os quais foram possíveis ser quantificado nos subprodutos *in natura*, tais como, Fe, K, Mn, Mg e Zn. Os demais, Cu, Cr e Pb, não foi possível a determinação nas amostras de solo, devido à baixa concentração dos mesmos nos subprodutos *in natura* e o fator de diluição quando aplicados ao solo. As curvas de calibração são mostradas na Tabela 8.

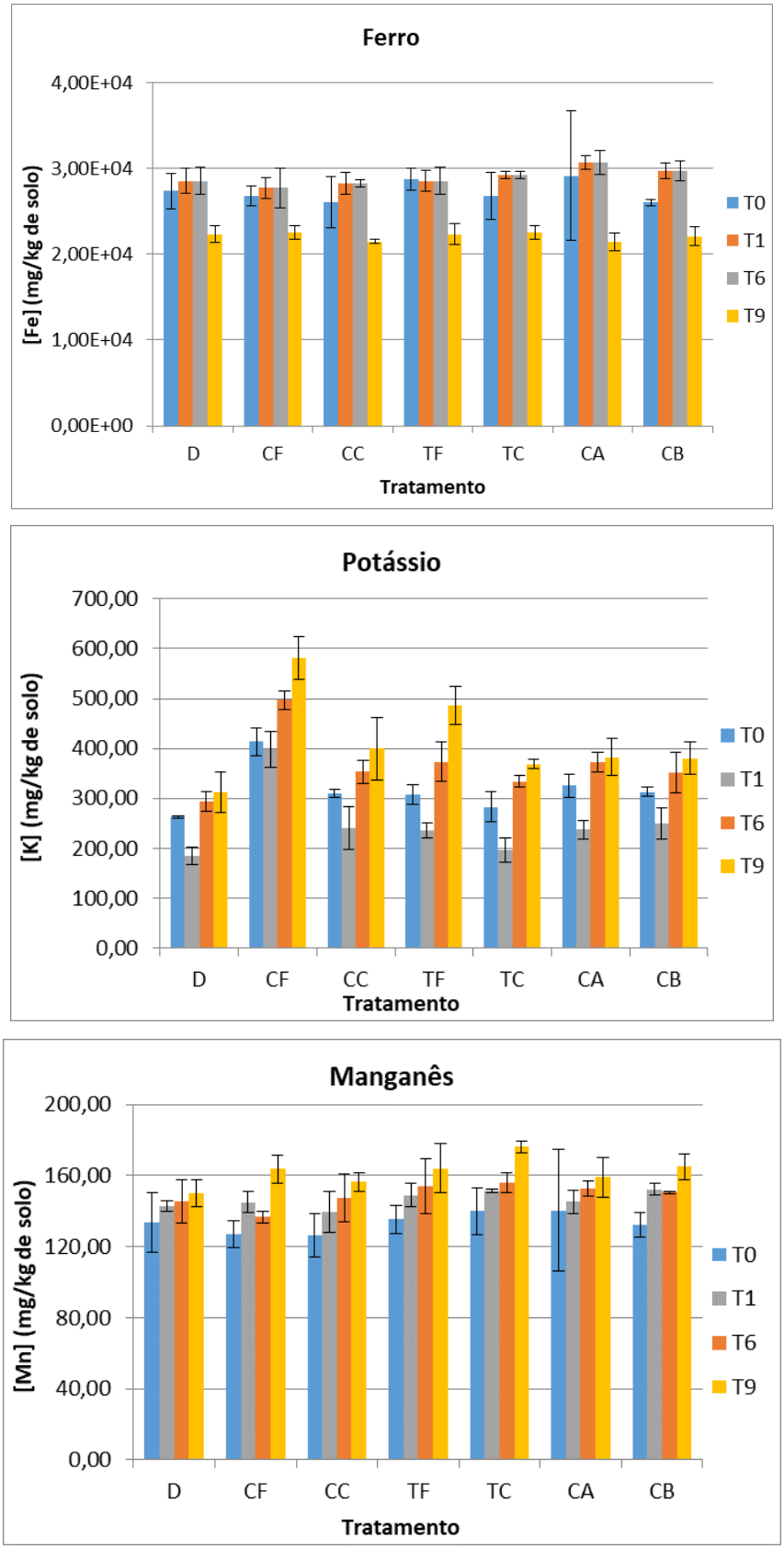
Tabela 8 - Curvas de calibração para os elementos quantificados nas amostras de solo

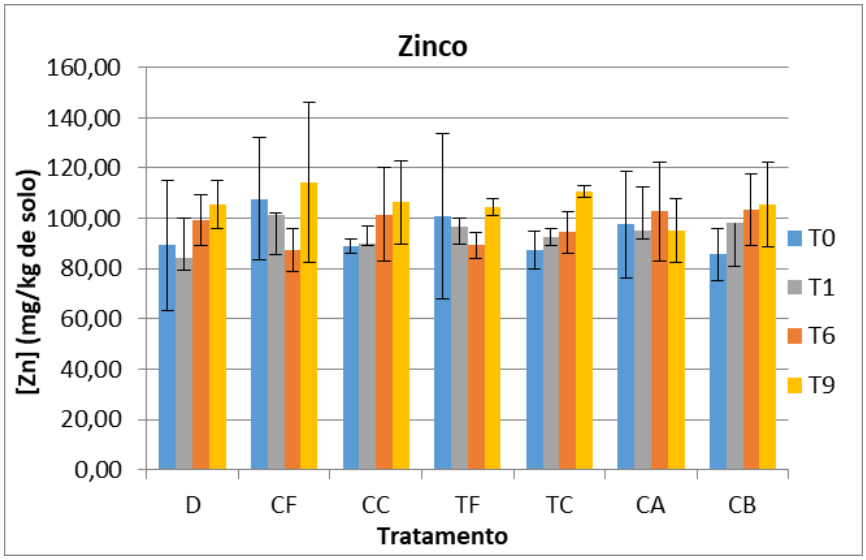
Elemento	**Faixa de concentração (mg/L)**		**Slope (*m*)**	**Intercept**	**Coeficiente de correlação**
	Mínimo	**Máximo**			
Fe	10,00	175,00	0,0025	0,0000	0,9921
K	0,10	5,00	0,4391	0,0000	0,9943
Mg	0,20	4,00	0,3395	0,0000	0,9813
Mn	0,10	5,00	0,0979	0,0000	0,9981
Zn	0,10	5,00	0,1562	0,0000	0,9913

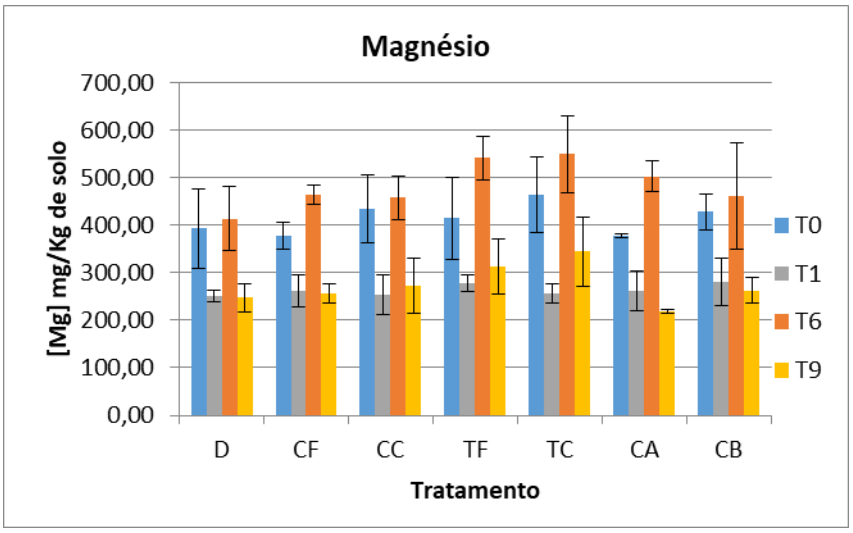
Fonte: Autoria própria

Na Figura 32, são mostradas as concentrações médias já convertidas (mg/kg de solo) para cada elemento em análise. As análises para as amostras de solo também foram realizadas em triplicados pelo equipamento e consideradas no cálculo da concentração média e do desvio padrão.

Figura 32 - Concentração média de metais nos tratamentos em estudo nas amostras dos tempos T0, T1, T6 e T9.







Fonte: Autoria própria. **D**: Testemunha, **CF**: Cinza Fresca, **CC**: Cinza Compostada, **TF**: Torta Fresca, **TC**: Torta Compostada, **CA**: Composto A (50% de torta – 50% cinza), **CB**: Composto B (75% de torta – 25% cinza). T0 (5 dias), T1 (15 dias), T6 (180 dias) e T9 (360 dias).

Para todos os elementos quantificados os RSD foram obtidos em torno de 1%. A partir dos resultados obtidos para Fe, pôde-se verificar que a faixa de concentração do elemento obtida nas amostras de solo tratado (entre 2 e 3.10^4 mg/kg de solo) está acima da concentração encontrada nos subprodutos puros (no máximo 1.10^4 mg/kg de subproduto). Logo, a aplicação dos subprodutos a esse tipo de solo não teria grande impacto do ponto de vista de de Fe, já que os latossolos são ricos nesse elemento. Já para o K foi possível observar as maiores concentrações em CF, assim como já detectado nos subprodutos *in natura*.

As concentrações dos elementos Mn, Zn e Mg não apresentaram grandes variações ao longo do experimento. Os teores médios obtidos para esses elementos foram de 140 mg/kg, 90 mg/kg e 350 mg/kg respectivamente.

4.1.4 – Considerações parciais sobre o uso de subprodutos

Todos os subprodutos *in natura* apresentaram maior concentração de C e N do que o solo testemunha. Portanto, a adição desses subprodutos em qualquer concentração trará incorporação desses elementos ao solo. No entanto, o tratamento TF em particular, exigiu maior atenção por conta de seu elevado teor de C lábil, no qual pode-se notar, através da extrapolação da curva de decaimento, a eminência do efeito *priming* negativo a partir de 720 dias, logo a possível perda não apenas desse C incorporado, mas principalmente do C preexistente no solo.

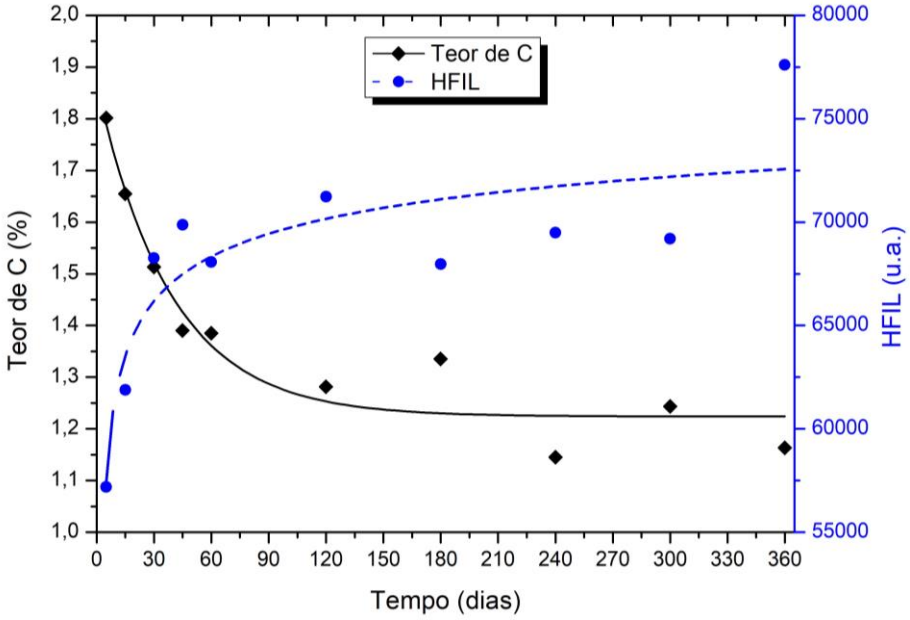
Já o teor de N em TF indicou a possibilidade de emprego deste subproduto como subproduto, porém o teor de C lábil mostrou que o tratamento demanda atenção. Por conta da compostagem prévia, verificou-se uma pequena diminuição no teor de N (em torno de 0,25%), comparando TF a TC. Logo, indo de encontro com a ideologia dos proprietários das usinas, recomenda-se fortemente o emprego do subproduto compostado (TC) com um pouco menos de N, no entanto com C mais estabilizado, evitando-se assim o estímulo da atividade e crescimento da microbiota de forma exacerbada através da entrada C lábil, gerando prejuízos ambientais e degradação futura do solo.

Os resultados do H_{FIL} complementaram os resultados obtidos por Análise Elementrar. Pôde-se verificar um aumento dos índices de humificação ao longo do experimento principalmente nas amostras do tratamento TF em contrapartida ao decaimento dos teores de C (Figura 33). Com isso pode-se dizer então que houve um aumento na aromaticidade dos compostos orgânicos e condensação das moléculas constituintes da MOS, tornando-a assim mais estável e menos susceptível à decomposição de microrganismos. A partir da Figura 33 pode-se afirmar que os índices de humificação foram de aproximadamente de 57200 para 77600, ou seja, um aumento de quase 36%.

A compostagem mista (CA e CB) utilizando ambos subprodutos frescos (torta de filtro (TF) + cinza de bagaço de cana-de-açúcar (CF)) se mostrou uma alternativa muito conveniente, pois contribui para o processo de maturação de TF e, ao mesmo tempo, mantém certo teor de N, proveniente de TF disponível nos compostos finais (CA e CB). Esta gestão conjunta pode ser considerada uma vantagem ao uso avulso dos subprodutos, uma vez que supre a deficiência de N em CF através de TF e fornece nutrientes tais como K ao solo, provenientes de CF. Deve-se considerar também que os índices de humificação para CA e CB foram da mesma ordem de

TC, reforçando assim a importância da compostagem para aumento da recalcitrância do C e a vantagem da compostagem mista.

Figura 33 – Evolução dos teores de C e H_{FIL} para o tratamento TF.



Fonte: Autoria própria

Segundo Vitti e colaboradores (2003) a fertilização necessária para a obtenção de uma produtividade de 100 toneladas de cana por hectare (TCH), deve ser de 120 e 150 kg de N e K por hectare, respectivamente. Considerando o tratamento CB desse trabalho, o qual apresentou 0,6% de N, seria necessária a aplicação desse composto na dose de 20 Mg ha^{-1} (20 Mg ha^{-1}. 0,6% = 0,12 Mg ha^{-1} = 120 kg ha^{-1}), ou seja, metade da dose utilizada no experimento para a obtenção dessa produtividade. Utilizando ainda CB como exemplo, 150 kg de K por hectare seriam obtidos utilizando a dose de 35 Mg ha^{-1} de CB (35 Mg ha^{-1}. 4315 mg kg^{-1} = ~151 kg de K ha^{-1}). Os dois elementos aqui circunstanciados são de suma importância para a nutrição dos vegetais e a partir dessas hipóteses é possível verificar o potencial dos subprodutos como biofertilizantes para uma cultura sustentável.

Por fim, ficou evidente a importância da união e a associação das três técnicas em questão, CHN, LIFS e FAAS na obtenção de dados de suma importância para que as inferências citadas nesse tópico fossem comprovadas, além de fornecerem informações úteis para o desenvolvimento de modelos de quantificação elementar utilizando LIBS.

Os resultados apresentados no item 4.1, envolvendo os dados obtidos com a Análise Elementar e técnica LIFS geraram um artigo científico publicado na revista Microchemical

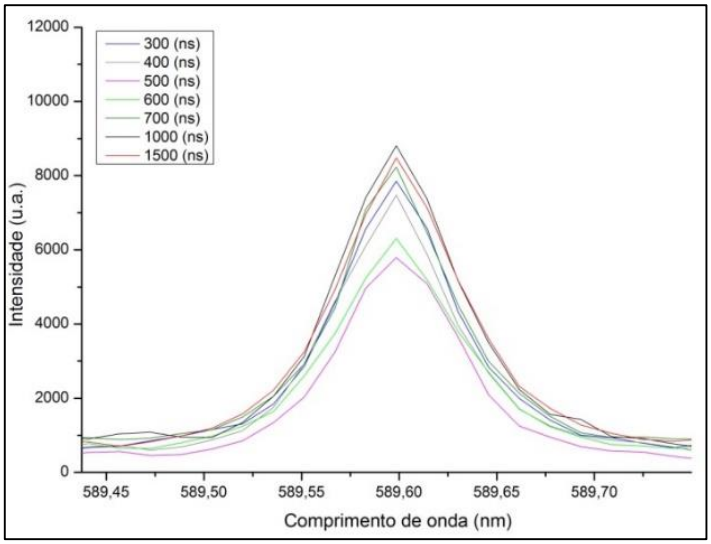
Journal em junho de 2019 intitulado “Evaluation of carbon content and humification index of soils under the application of by-products from sugarcane processing” (XAVIER, NICOLODELLI *et al*., 2019) (ANEXO A).

4.2 – Desenvolvimento de modelos para quantificação elementar utilizando LIBS

Para as medidas de DP LIBS realizou-se um estudo para a otimização dos parâmetros citados no tópico 3.3.4. Trabalhou-se então com o sistema DP LIBS em configuração colinear, onde a potência do laser 1 (532 nm) foi de 65%, cerca de 80 mJ e a do laser 2 (1064 nm) de 85%, cerca de 43 mJ. As energias foram aferidas ao fim do caminho óptico, ou seja, o mais próximo possível na superfície da amostra. Com isso considerou-se as perdas ao longo do caminho óptico.

Delay entre pulsos foram avaliados em 300, 400, 500, 600, 700, 1000, 1500 ns. Definiu-se ao valor de 1500 ns de *delay* entre pulsos com o intuito de evitar reabsorção. Para o *delay* do espectrômetro utilizou-se 500 ns. Na Figura 34 é mostrado um pico de sódio (Na I) em 589,59 nm para os diferentes *delay* entre pulsos.

Figura 34 - Pico 589,6 nm em diferentes tempos de entre pulsos



Fonte: autoria própria

Para os métodos de exclusão de *outlier*, preferiu-se utilizar o método MAD por conta da subjetividade existente no método SAM. Nesse método trabalha-se com o espectro médio como espectro de “referência”. Caso existam, por exemplo, espectros além de não representativos da amostra, mas que também apresentem comportamento distante da maioria do conjunto, esses espectros por sua vez influenciarão no cálculo do espectro médio,

diminuindo assim a variação entre o espectro médio “verdadeiro” (sem os *outliers*) e o espectro médio calculado a partir de todo o conjunto espectral. Logo, essa exclusão se torna relativa e tendenciosa caso haja grande quantidade de espectros anômalos.

Já a partir do método MAD, como cada ponto do espectro é tratado como uma distribuição e existem três valores de sensibilidade pré-definidos pelo método, a exclusão torna-se estatisticamente embasada, ao contrário do método SAM, onde o critério de exclusão é subjetivo, ou seja, escolhe-se arbitrariamente o valor limiar do cos (θ) entre os vetores espectro em teste e o espectro médio.

4.2.1 – Potássio (K)

4.2.1.1 – Modelos univariados

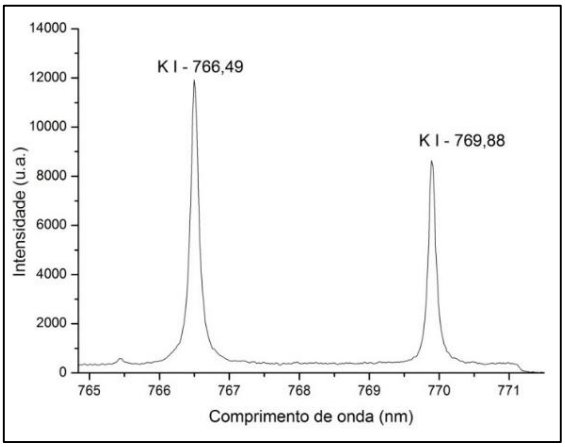
Para os modelos univariados com potássio, trabalhou-se com dois picos (Figura 35 e Figura 36) em 766,49 e 769,88 nm, já que não foi possível localizar as demais linhas persistentes por conta da relação sinal/ruído. Essas linhas são linhas referentes a transições para o estado fundamental, portanto muito intensas e sujeitas a auto absorção.

Figura 35 - Informações sobre as linhas de K do banco de dados NIST

Ion	Observed Wavelength Air (nm)	Ritz Wavelength Air (nm)	Unc. (nm)	Rel. Int. (?)	A_{ki} (s^{-1})	Acc.	E_i (cm^{-1})		E_k (cm^{-1})	Lower Level Conf., Term, J	Upper Level Conf., Term, J
K I	766.489913	766.48991	0.00003	25r	3.80e+07		0.0000	-	13 042.896027	$3p^6 4s\ ^2S\ ^1/_2$	$3p^6 4p\ ^2P^o\ ^3/_2$
K I	769.896456	769.89646	0.00003	24r	3.75e+07		0.0000	-	12 985.185724	$3p^6 4s\ ^2S\ ^1/_2$	$3p^6 4p\ ^2P^o\ ^1/_2$

Fonte: ((NIST), 2013)

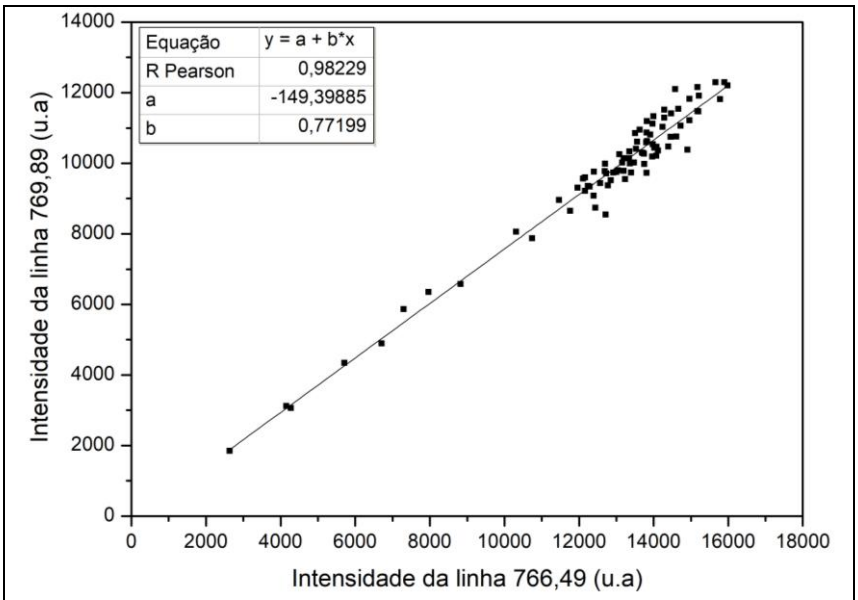
Figura 36 - Picos de potássio



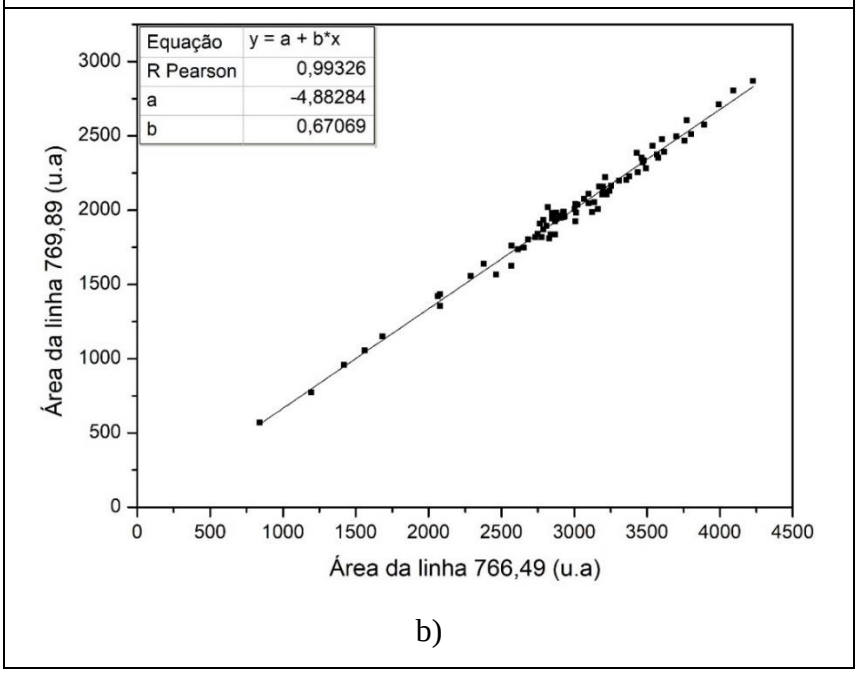
Fonte: Autoria própria

Visando a melhor extração dos dados, nas Figura 37a e b a seguir são mostrados gráficos de correlação entre as intensidades e as áreas dos picos 766,49 e 769,88 nm para as 84 amostras. Devido à alta correlação entre as duas linhas, definiu-se o trabalho apenas para a linha 766,49 nm.

Figura 37 - Correlação entre as informações das linhas 766,49 e 769,88 nm; a) Intensidades e b) área dos picos.



a)

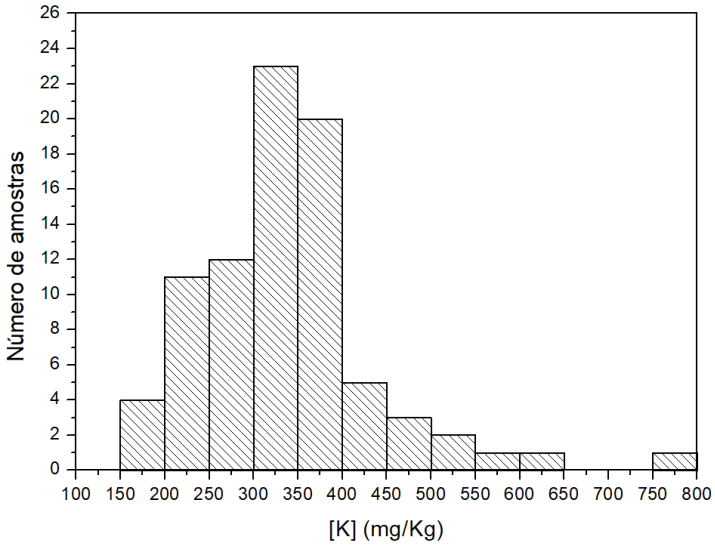


b)

Fonte: Autoria própria

Também foi realizado um estudo prévio baseado na análise da faixa das concentrações de referência das amostras a serem utilizados para a criação dos modelos a partir do histograma das concentrações (Figura 38). Com ele é possível se ter percepção da amplitude dos dados de referência que serão utilizados na construção das curvas de calibração. Os valores de referência abrangem um intervalo aceitável de se trabalhar, de aproximadamente 150 a 800 mg/kg, com maior densidade de amostras de 300 a 400 mg/kg.

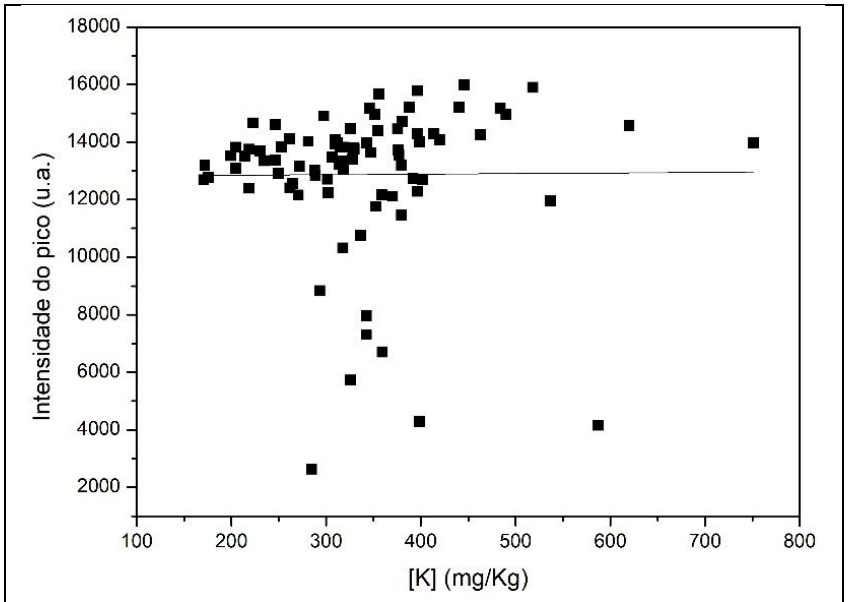
Figura 38 - Histograma das concentrações de K (mg/kg) das amostras a serem utilizadas nos modelos



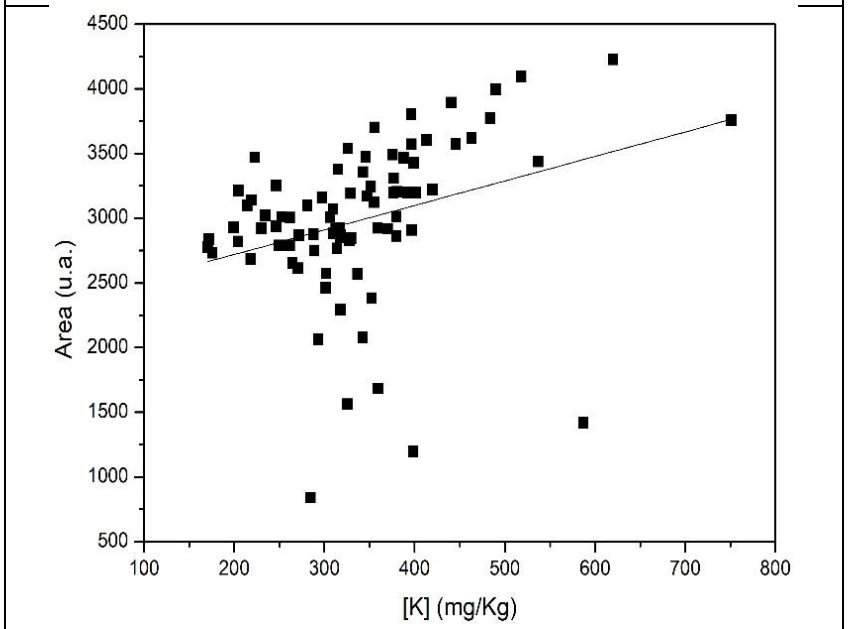
Fonte: Autoria própria

Baseado nos resultados anteriores, a primeira abordagem foi a construção de modelos mais simples, lineares, univariados, utilizando todas as 84 amostras correlacionando informações do pico tais como intensidade, área e largura à meia altura (FHWM) com os valores de referência com o objetivo de avaliação prévia do comportamento de correlação entre os dados (Figura 39).

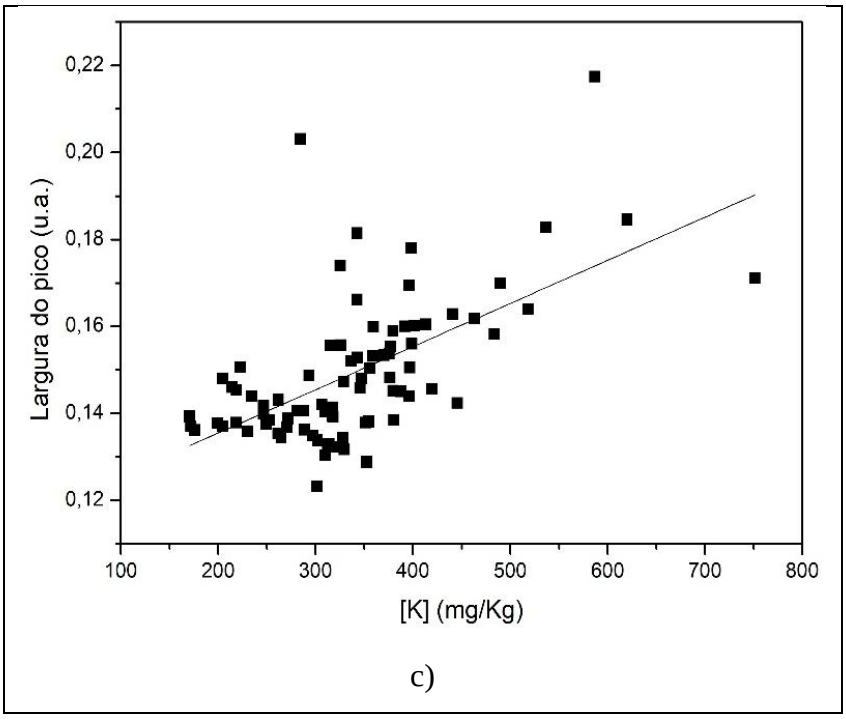
Figura 39 - Modelos de calibração para K utilizando a) Intensidade; b) Área e c) Largura do pico (FHWM)



a)



b)



c)

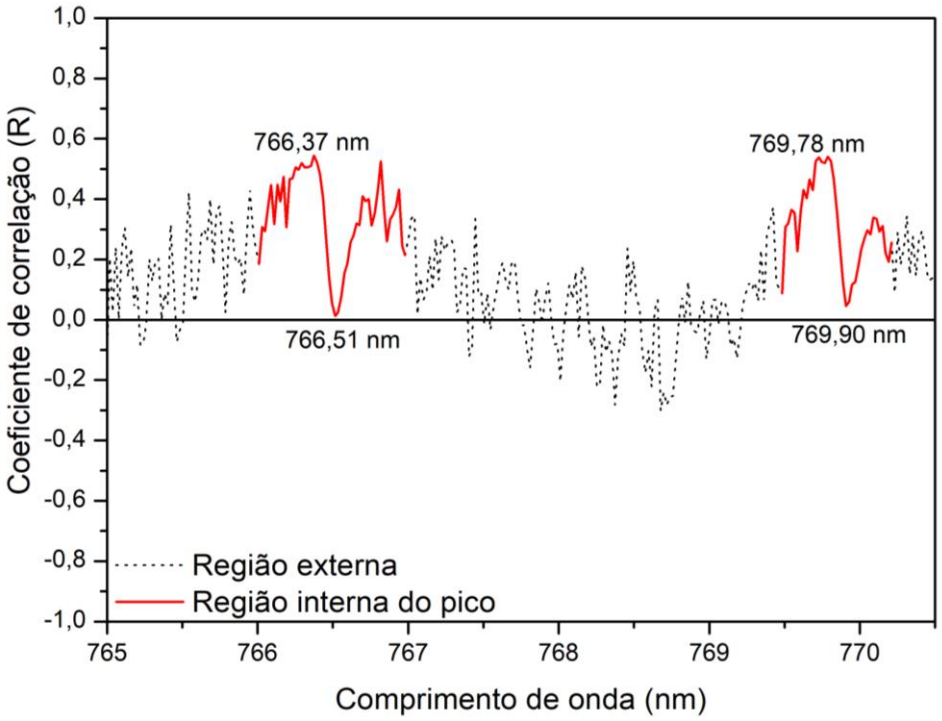
Fonte: Autoria própria

Segundo os resultados anteriores, ficou evidente a baixa correlação entre as informações obtidas por LIBS e as concentrações de referência.

Sabido que esses dois picos são referentes a transições para o estado fundamental, sujeito a ocorrência de efeito de auto-absorção, então, visando o melhor entendimento de como essa faixa espectral dos picos se correlaciona com os valores de concentração de referência, foi analisado o gráfico de correlação, no qual os valores de referência foram correlacionados ponto a ponto com toda faixa espectral. Na Figura 40 é demonstrado o gráfico de correlação o qual compreende a região espectral dos dois picos de emissão do potássio.

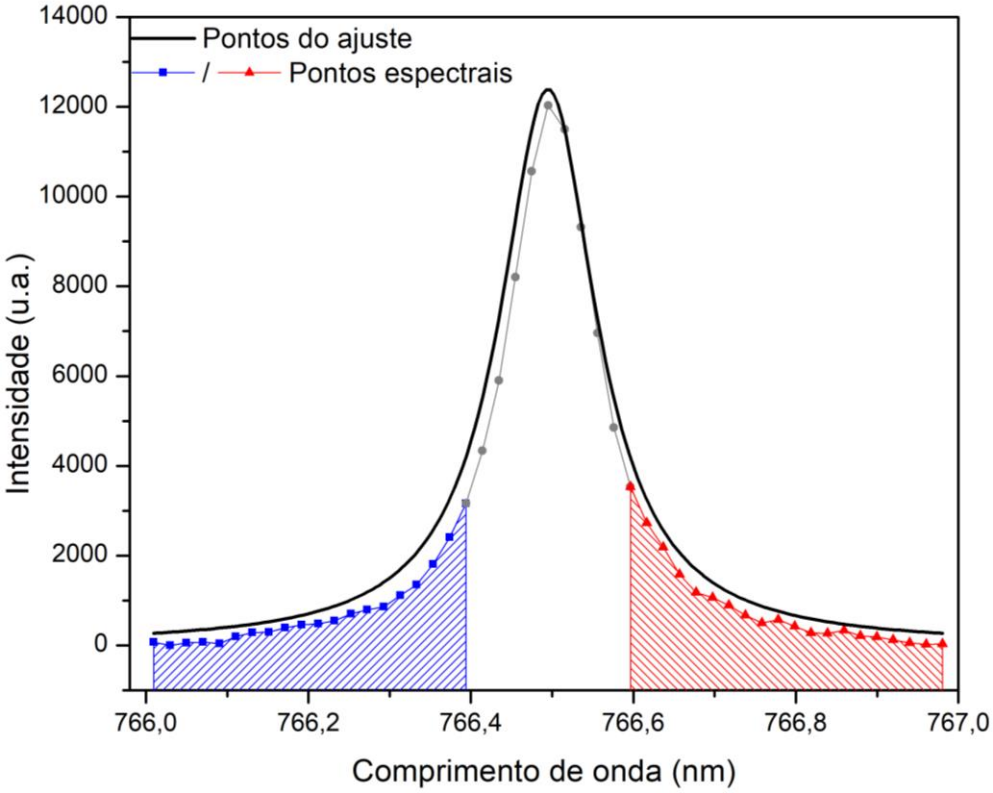
O resultado mostrou a tendência de dimuição de correlação, chegando a zero, ao passo que se aproxima do topo dos dois picos em questão. A hipótese formulada para essa tendência é que possa estar ocorrendo auto-absorção por conta de se tratarem de duas linhas muito intensas de emissão, a qual essa auto-absorção se torna mais pronunciada nos pontos centrais do pico. Para contorno de tal hipótese, buscou-se trabalhar e correlacionar as áreas laterais do pico (ou “asas do pico”) com os valores de referência até o ponto em que a correlação aumentou, ou seja, por volta de 766,0 a 766,37 nm (Figura 41).

Figura 40 - Gráfico de correlação (R) da região dos picos de potássio



Fonte: Autoria própria

Figura 41 - Integrais parciais do pico

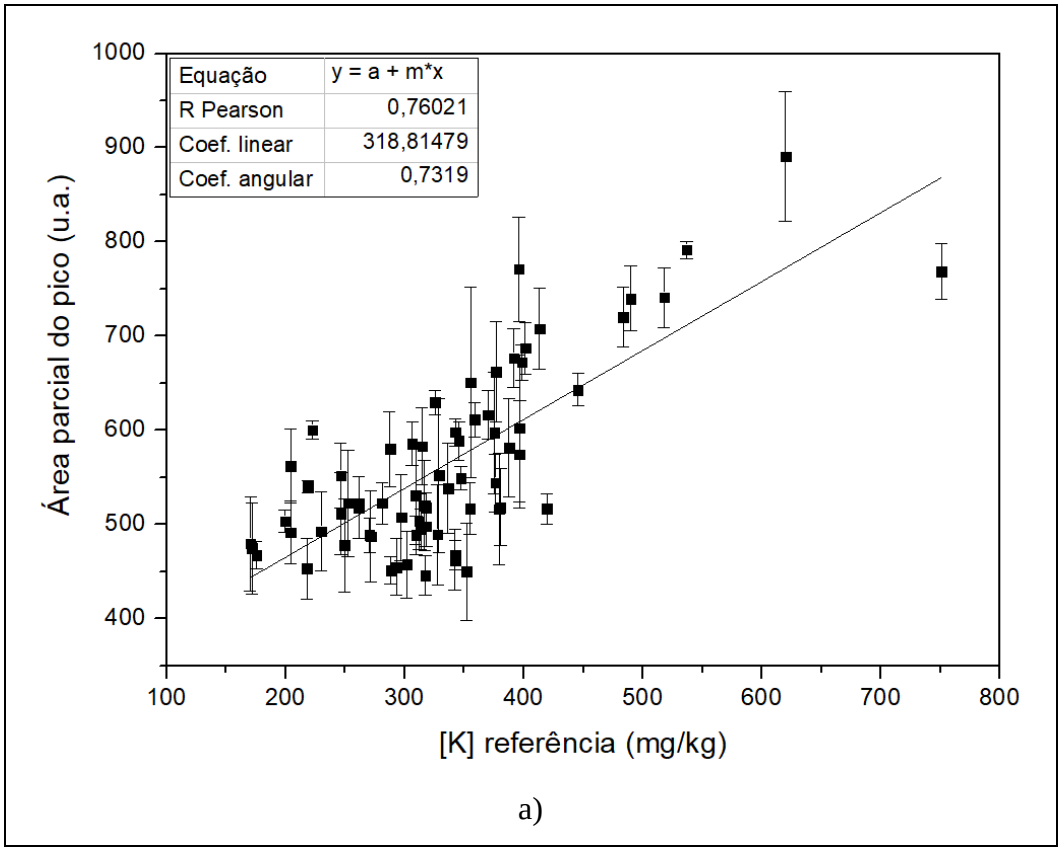


Fonte: Autoria própria

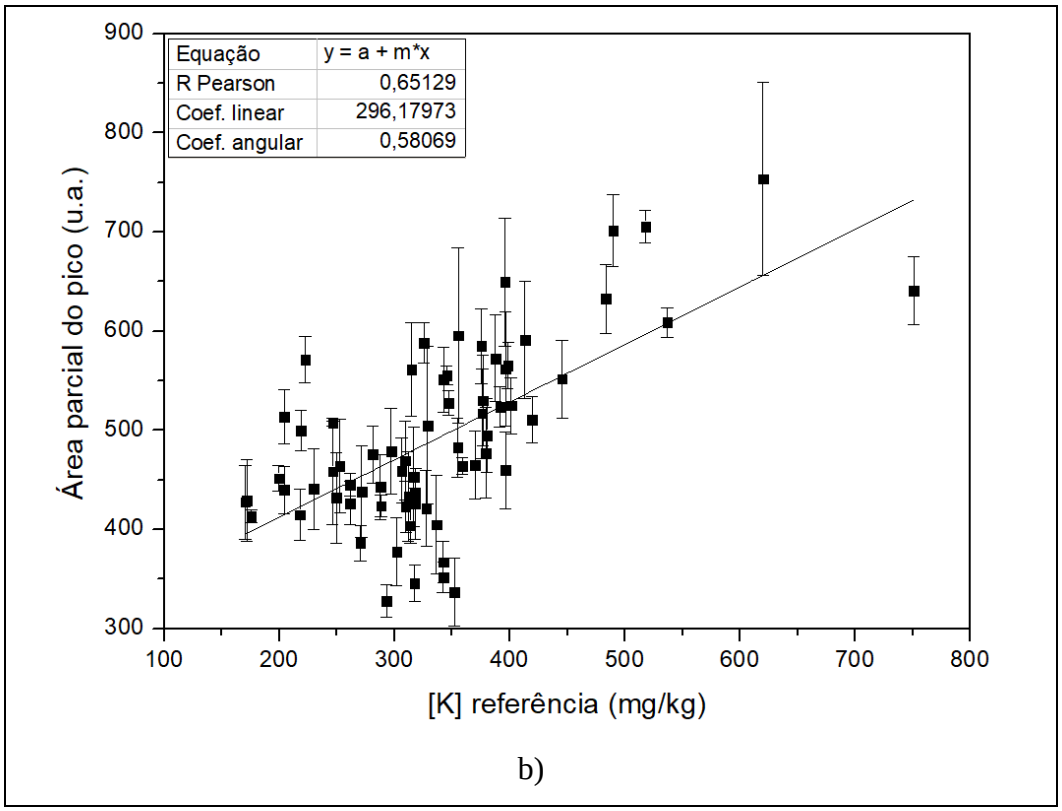
Para tal investigação, foram estudadas as duas laterais do pico, tanto a integral ponto a ponto na faixa espectral (pontos espectrais), quanto a integral do melhor ajuste para o pico (Fit Lorentziano). Os melhores resultados foram obtidos para a lateral do lado esquerdo do pico (hachurado azul) o qual apresentou os maiores coeficientes de correlação (Figura 40), demonstrando assim uma possível assimetria do pico.

Para a construção dos modelos utilizando as áreas parciais do pico, o conjunto amostral foi separado em dois grupos, o primeiro grupo sendo formado por 69 amostras (~90% do conjunto amostral) destinadas à construção da curva de calibração e o segundo grupo sendo formado por 9 amostras (~10% do conjunto amostral) destinadas à validação da curva de calibração. Na Figura 42 são mostradas as curvas de calibração utilizando tanto os pontos espectrais (Figura 42a), quanto o ajuste Lorentziano (Figura 42b).

Figura 42 - Curvas de calibração para potássio utilizando as integrais parciais da linha 766,49 nm obtidas para; a) pontos os espectrais, b) Fit Lorentziano.



a)



b)

Fonte: Autoria própria

As equações das curvas de calibração são apresentadas na forma $y = a + mx$ na

Tabela 9, onde o termo "a" é o intercepto ou coeficiente linear e o termo "m" é a inclinação ou coeficiente angular. Também são apresentados os coeficientes de correlação (R de Pearson).

Tabela 9 - Equações das curvas de calibração obtidas para potássio

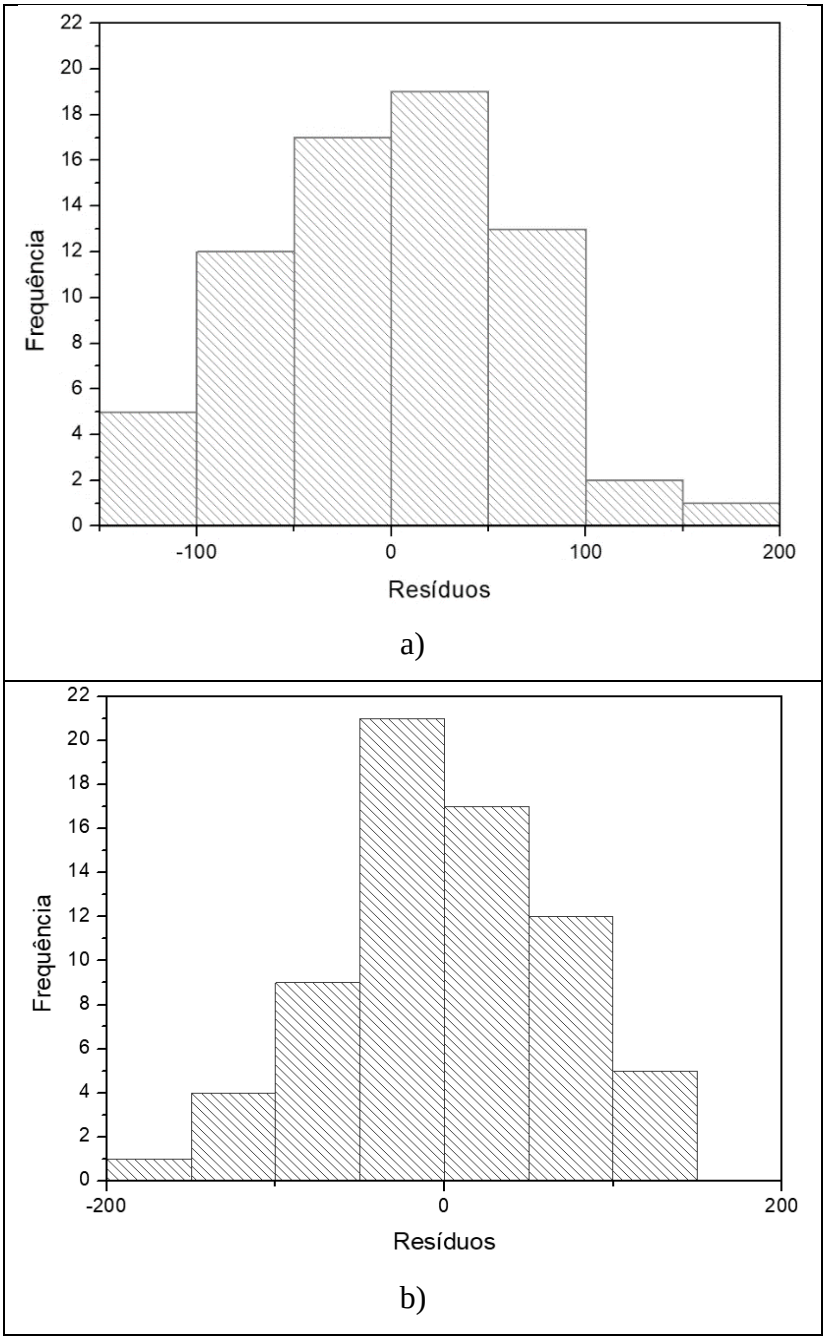
	a	**m**	**R**
Pontos espectrais	318,81	0,73	0,76
Pontos do ajuste	296,18	0,58	0,65

Fonte: Autoria própria

Ambos os modelos apresentaram p-valor (α=0,05) próximo a zero mostrando assim a significância da curva. Na Figura 43 é mostrado o histograma dos subprodutos da curva de calibração e na Figura 44 é mostrado o gráfico de distribuição dos subprodutos. A partir desses dois gráficos é possível notar a distribuição normal dos subprodutos bem como a homocedasticidade e ausência de amostras atípicas, manifestando um comportamento

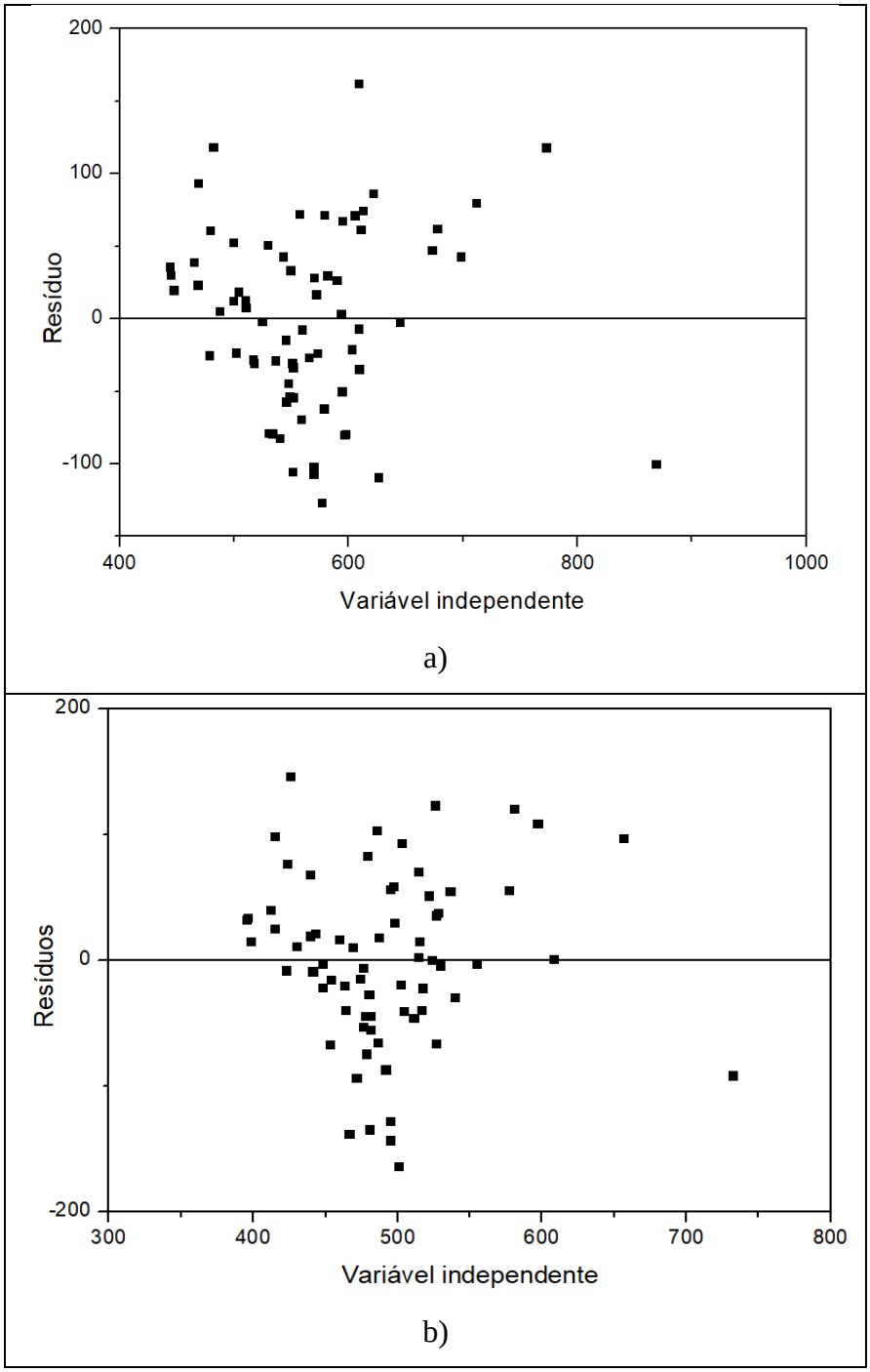
homogêneo e constante ao longo de toda a faixa da variável independente, ou seja, os valores das concentrações de potássio obtidos pela técnica de referência.

Figura 43 – Histograma dos subprodutos; a) pontos os espectrais, b) Fit Lorentziano.



Fonte: Autoria própria

Figura 44 - Gráfico de distruição dos subprodutos da curva de calibração; a) pontos os espectrais, b) Fit Lorentziano.



Fonte: Autoria própria

Concluída a etapa de construção das curvas de calibração, deu-se continuidade ao estudo com a etapa de validação dos métodos analíticos. Tratou-se da etapa em que através de

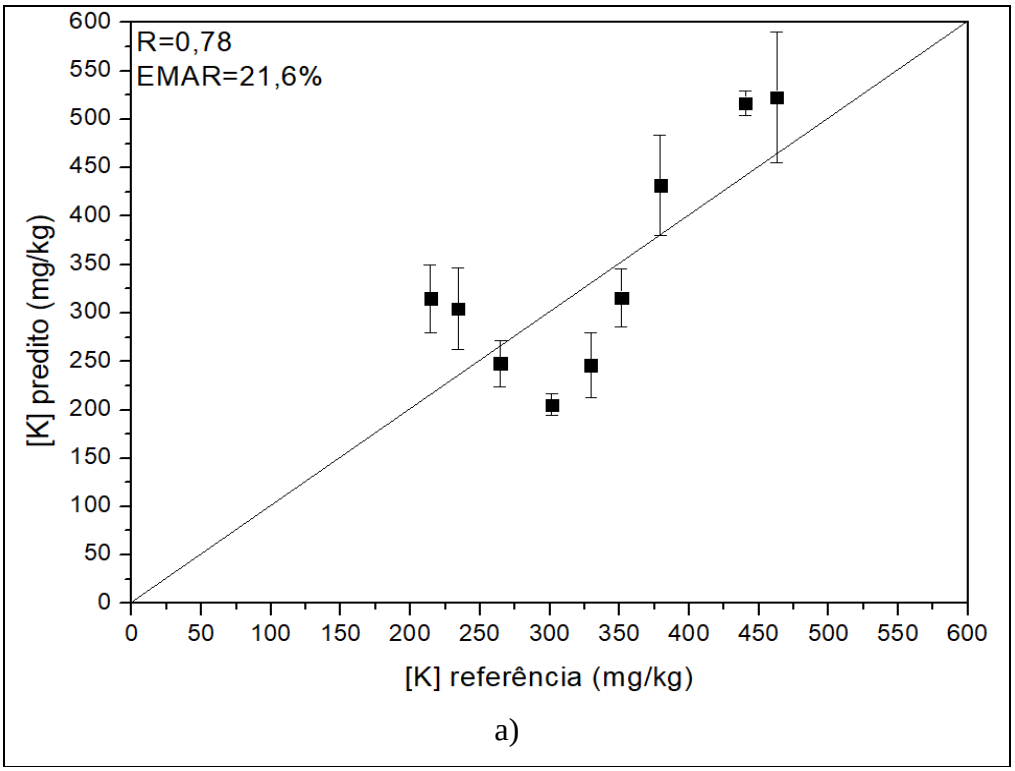
avaliações, as quais incluem a construção da curva de predição e o cálculo dos LOD dos modelos, assegura-se a confiabilidade e a qualidade dos resultados obtidos.

Para a validação dos modelos construídos foram utilizadas as amostras excluídas do primeiro grupo de amostras previamente selecionado para a calibração, afim de se realizar a predição das concentrações de K desse segundo grupo de amostras. Os valores preditos pela curva de calibração foram correlacionados aos valores de referência (Figura 45), bem como o erro médio absoluto relativo (EMAR) de cada modelo foi calculado segundo a *Equação 8*:

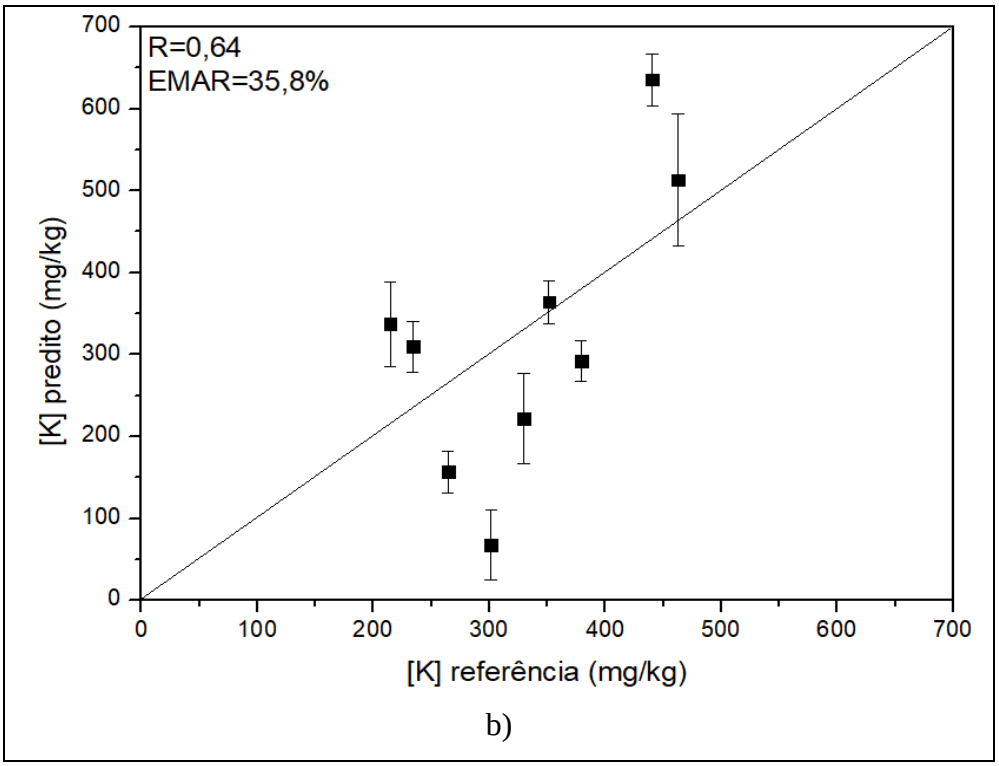
$$EMAR = \frac{\left([K]_{AAS} - [K]_{predito}\right)}{[K]_{AAS}} \text{ x } 100 \qquad \textit{Equação 8}$$

Sendo, $\%K_{AAS}$ = concentração de K (mg/kg) determinado por AAS e $\%K_{predito}$ = teor de carbono (%) estimado pelo modelo do LIBS.

Figura 45- Curvas de validação dos modelos para quantificação de K utilizando LIBS utilizando: a) pontos os espectrais, b) Fit Lorentziano.



a)



b)

Fonte: Autoria própria

Os LOD para os métodos propostos foram calculados das duas formas como explicitado no item 2.4.4.5. Primeiramente utilizando o desvio das medidas no pico da amostra com menor concentração e resultaram em 206 mg/kg para o modelo utilizando os pontos espectrais e 193 mg/kg para o modelo de utilizando os pontos do ajuste Lorentziano. Já utilizando a segunda forma, a partir de uma região de ruído próxima ao pico em estudo, os resultados foram de 177 mg/kg e 223 mg/kg, respectivamente.

Os resultados obtidos para potássio utilizando a linha 766,49 nm e os parâmetros tanto dos pontos espectrais quanto para os pontos obtidos pelo ajuste Lorentziano abordando modelos lineares univariados foram satisfatórios levando em conta fatores intrínsecos à técnica, à matriz analisada, a qual influência diretamente na formação do plasma e a heterogeneidade natural das amostras. Ficaram evidentes as diferenças entre obter-se as áreas parciais do pico utilizando os pontos espectrais e utilizando os pontos obtidos pelo ajuste Lorentziano, já que o modelo utilizando os pontos espectrais para obtenção da integral parcial, mostrou um coeficiente de correlação mais alto do que o modelo, utilizando os pontos do ajuste. Essa diferença entre as correlações pode ter sido gerada devido à possibilidade de, no momento do ajuste, certas informações sobre o pico estarem sendo suprimidas, já que foi possível visualizar através do gráfico de correlação que há uma possível assimetria no pico. Os EMARs e LOD se mostraram

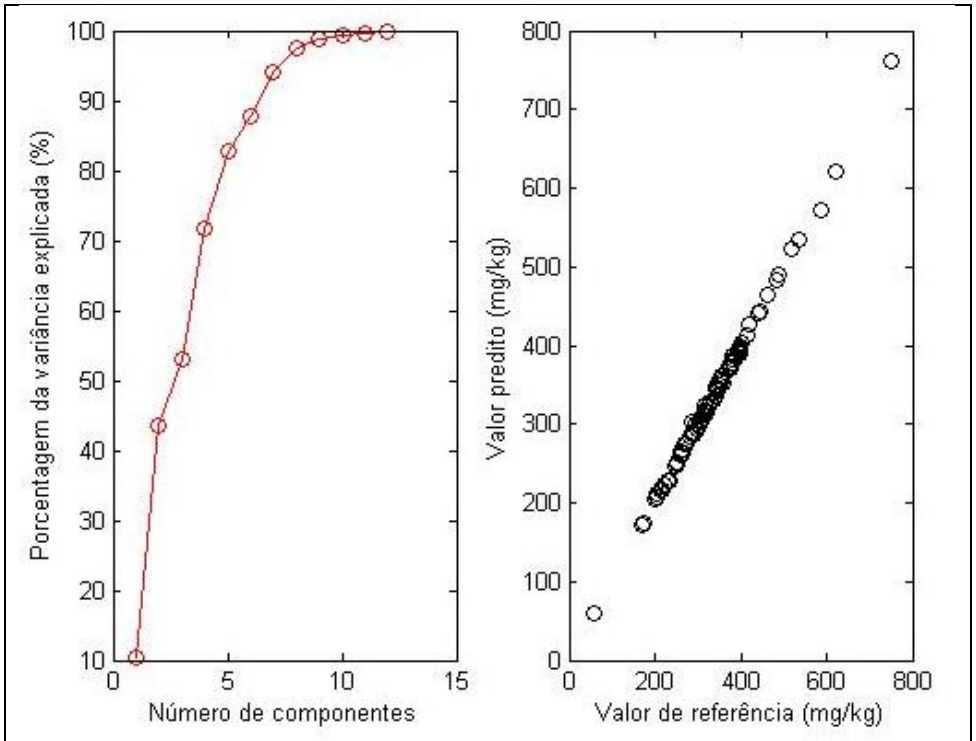
em média próximos aos obtidos para modelos de calibração utilizando métodos similares (SEGNINI, XAVIER *et al.*, 2014; XAVIER, 2014).

À procura de melhores resultados, também foi estudada a derivada do pico, com o intuito de obter-se o ponto máximo da função e então correlacionar-se com a técnica de referência, já que o ponto máximo dessa derivada corresponde ao ponto de máxima inclinação no pico. Porém, os resultados não foram satisfatórios e o coeficiente de correlação se mostrou abaixo dos valores de R obtidos para as integrais parciais. Em busca de obter-se melhores resultados foram estudados modelos multivariados, como o PLS.

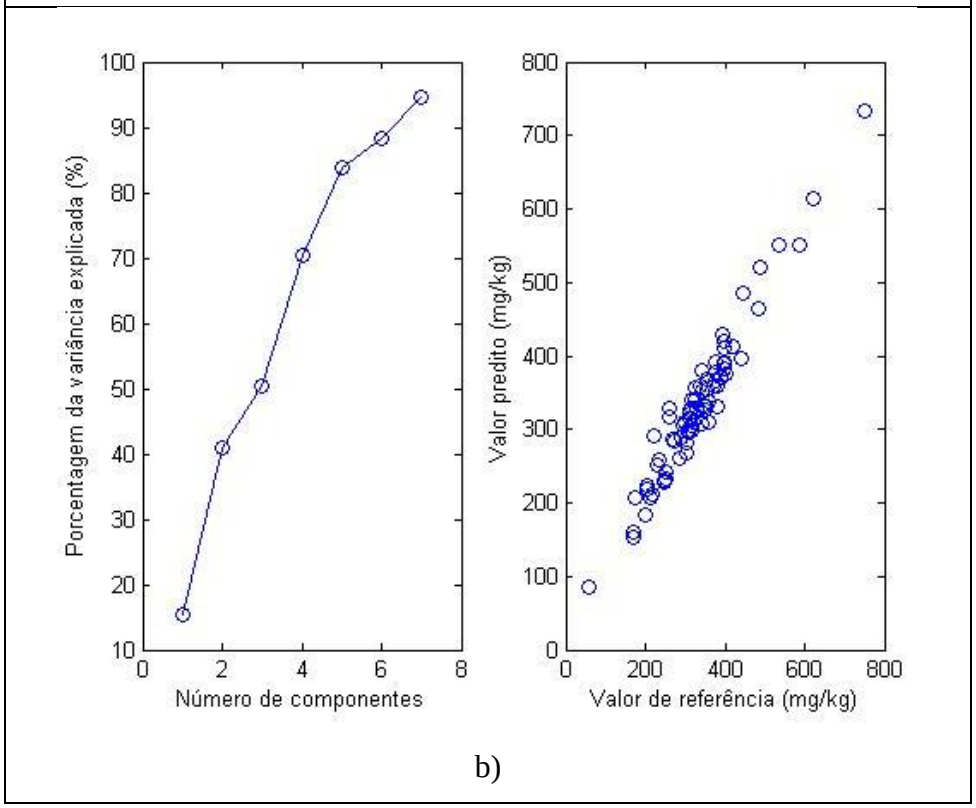
4.2.1.2 – Modelos multivariados

Os resultados utilizando PLS para potássio são mostrados na Figura 46, onde em a) utilizou-se 12 PCs para construção do modelo. Porém, nota-se o sobre-modelamento utilizando um valor alto de PCs. Logo, baseado no resultado mostrado em a), onde pode-se notar que há mais de 90% da variância explicada com 7 componentes, criou-se um novo modelo, dividindo as amostras em um grupo de treino e um grupo de teste, utilizando dessa vez 7 PCs (Figura 46b), o qual mostrou boa correlação entre os valores de referência e os valores preditos. Já na Figura 46c, são mostrados o espectro médio na região dos picos 766,49 e 769,88 nm e os *loadings* de cada PC avaliada. Por fim, na Figura 46d é mostrada a curva de calibração (pontos * em preto) e a curva de validação (pontos º em vermelho).

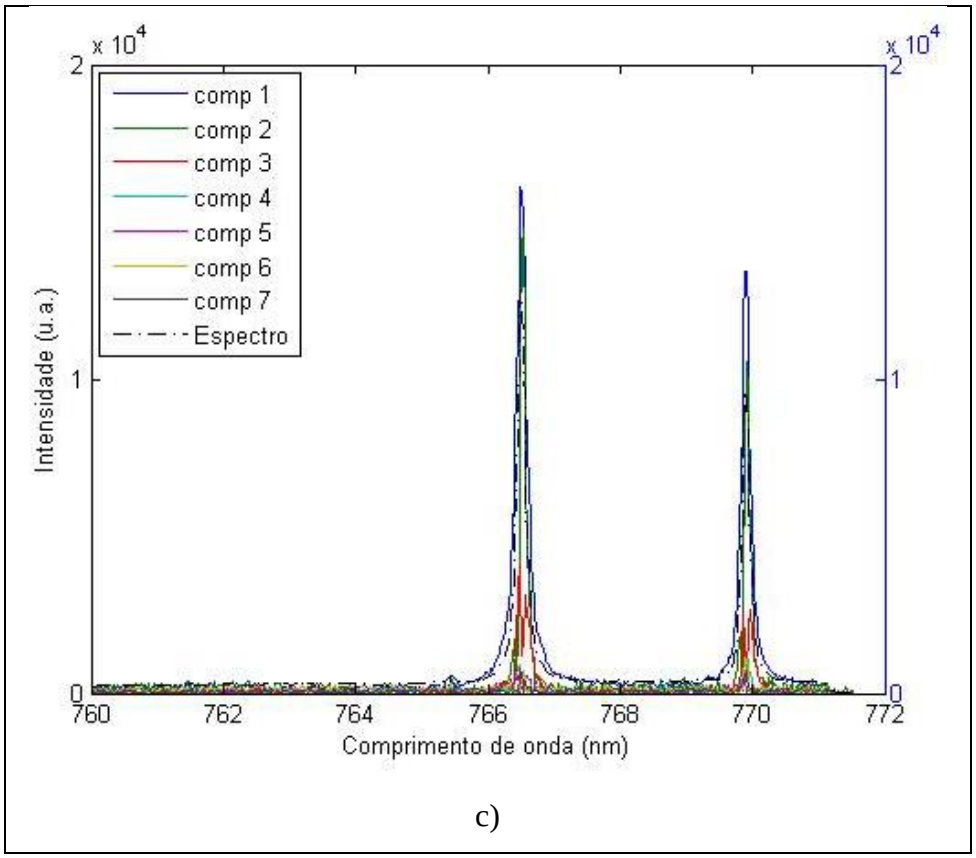
Figura 46 – Gráficos de saída do modelo utilizando PLS para a região de 760 a 772 nm. a) utilizando 12 PCs e a curva de calibração; b) utilizando 7 PCs; c) espectro médio e os *loadings* de cada PC e d) modelos de calibração e validação.



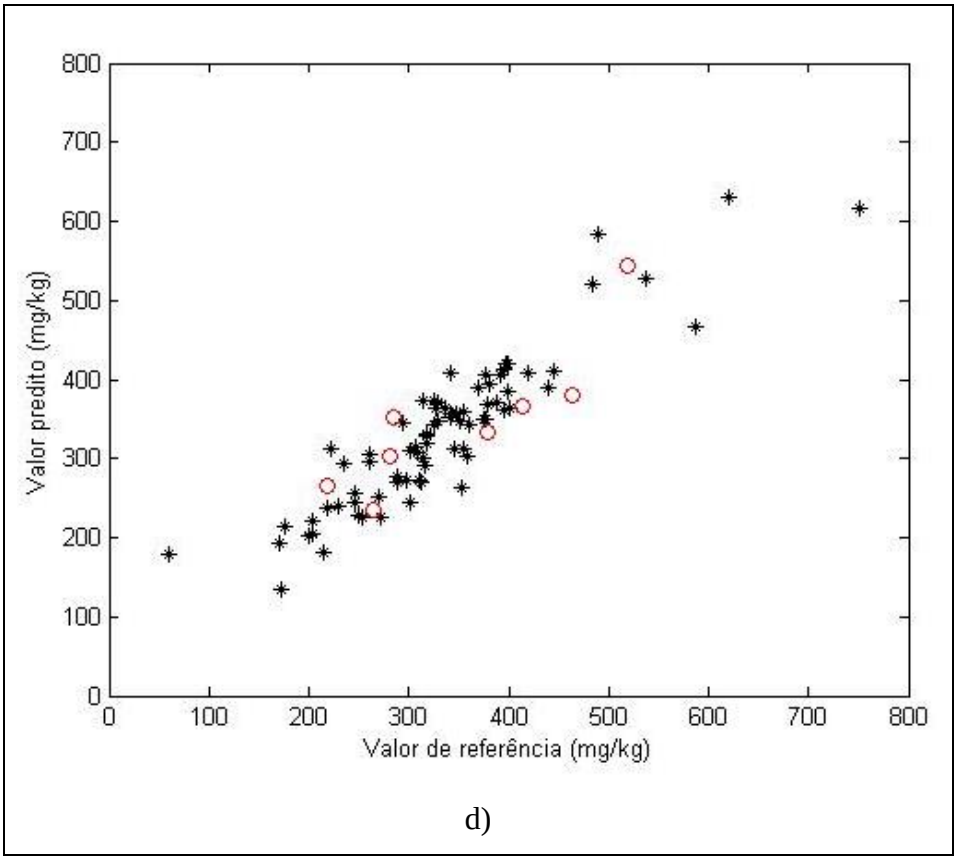
a)



b)



c)



d)

Fonte: Autoria própria

Para a construção do modelo de calibração para o potássio, os coeficientes de determinação para a calibração R_c^2 e para a predição R_p^2, foram respectivamente de 0,83 e 0,75. Ambas as curvas, de calibração e validação apresentaram boa correlação. Já o RMSEC e RMSEP apresentaram valores de aproximadamente 41,7 e 49,47 mg/kg.

4.2.2 – Carbono (C)

4.2.2.1 – Modelos univariados

As principais linhas de emissão atômica do carbono são observadas em 193,03 e 247,85 nm. Estudos anteriores avaliaram o potencial da técnica LIBS para a quantificação de C no solo utilizando a linha em 193,03 nm, parcialmente interferida por alumínio (NICOLODELLI, MARANGONI *et al.*, 2014; SEGNINI, XAVIER *et al.*, 2014; XAVIER, 2014). Tais autores utilizaram artifícios matemáticos para contornar tal interferência e obtiveram sucesso na criação de modelos univariados utilizando parâmetros dos picos em questão tais como intensidade e área, bem com a relação entre eles.

Já a linha em 247,85 nm é interferida por ferro (Figura 47). Como os solos brasileiros são ricos em alumínio e ferro, faz-se extremamente necessário o uso de ferramentas de matemáticas e computacionais com o objetivo de extrair as informações úteis e pertinentes aos dados vinculados a este elemento dentro de uma gama de informações contidas em tais faixas espectrais.

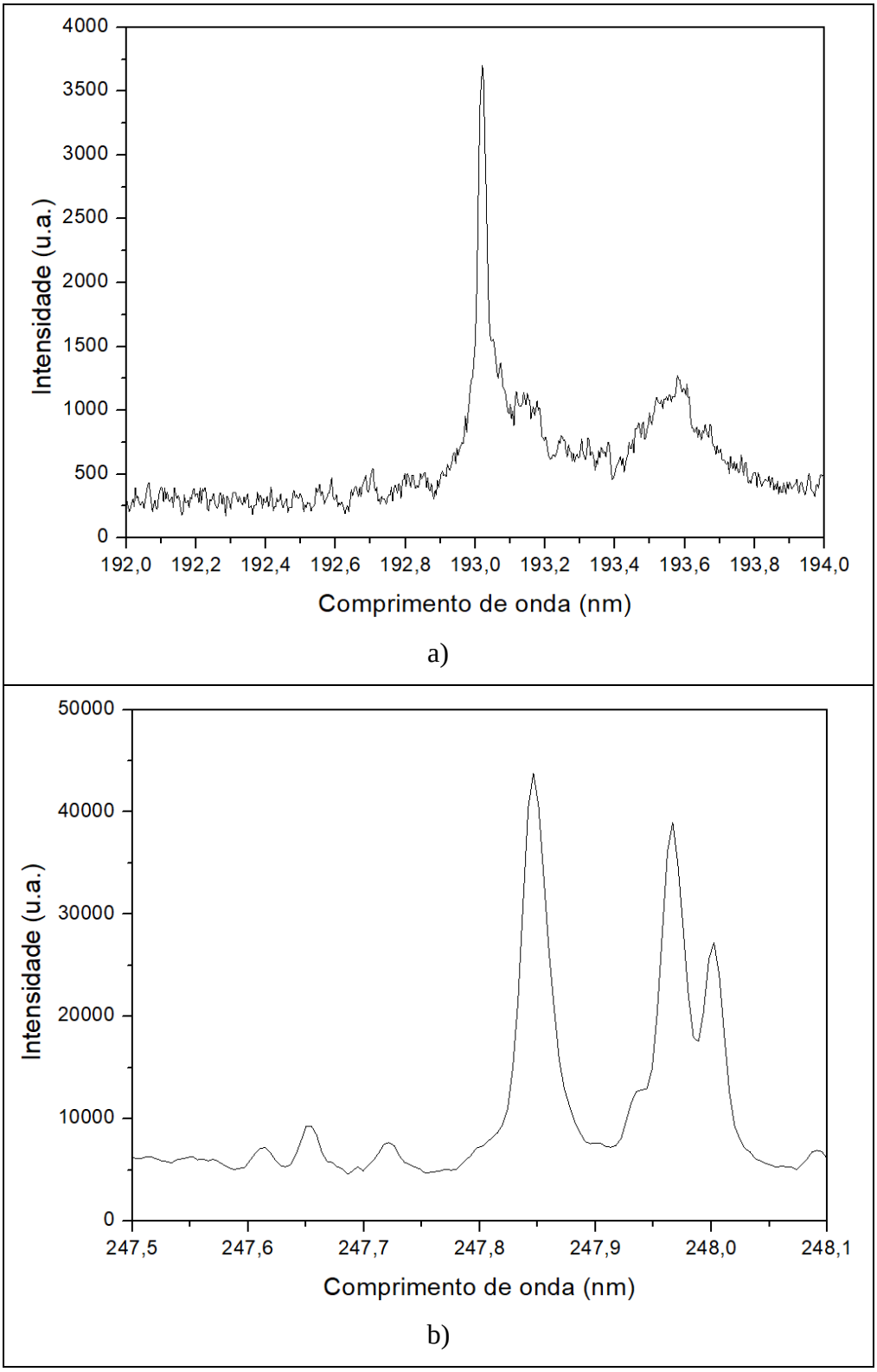
Nesse trabalho, utilizando o sistema LIBS-DP, foi possível visualizar ambas as linhas (Figura 48) em 193,03 (Figura 48a) e 247,85 nm (Figura 48b). Porém o foco do estudo se ateve a propor modelos utilizando a linha 247,85 nm, interferida por ferro.

Figura 47 - Informações sobre a região espectral da linha de C do banco de dados NIST

Ion	Observed Wavelength Air (nm)	Unc. (nm)	Ritz Wavelength Air (nm)	Unc. (nm)	Rel. Int. (?)	A_{ki} (s^{-1})	Acc.	E_i (cm^{-1})		E_k (cm^{-1})
Fe II	247.82107	0.00005	247.821075	0.000013	7000bl(Fe I)	5.6e+06	D+	21 812.0454	-	62 151.554
Fe I	247.82109	0.00019	247.821275	0.000014	148bl			19 621.006	-	59 960.482
Fe II	247.84503	0.00009	247.844958	0.000013	4000	3.1e+06	D+	21 251.5833	-	61 587.205
C I	247.85612	0.00010	247.856140	0.000019	640000000	2.8e+07	C+	21 648.030	-	61 981.83211
Fe II	247.857194	0.000012	247.857199	0.000011	110000	9.1e+07	C+	22 939.3512	-	63 272.981

Fonte: ((NIST), 2013)

Figura 48 - Picos de carbono: a) 193,03 nm e b) 247,85 nm



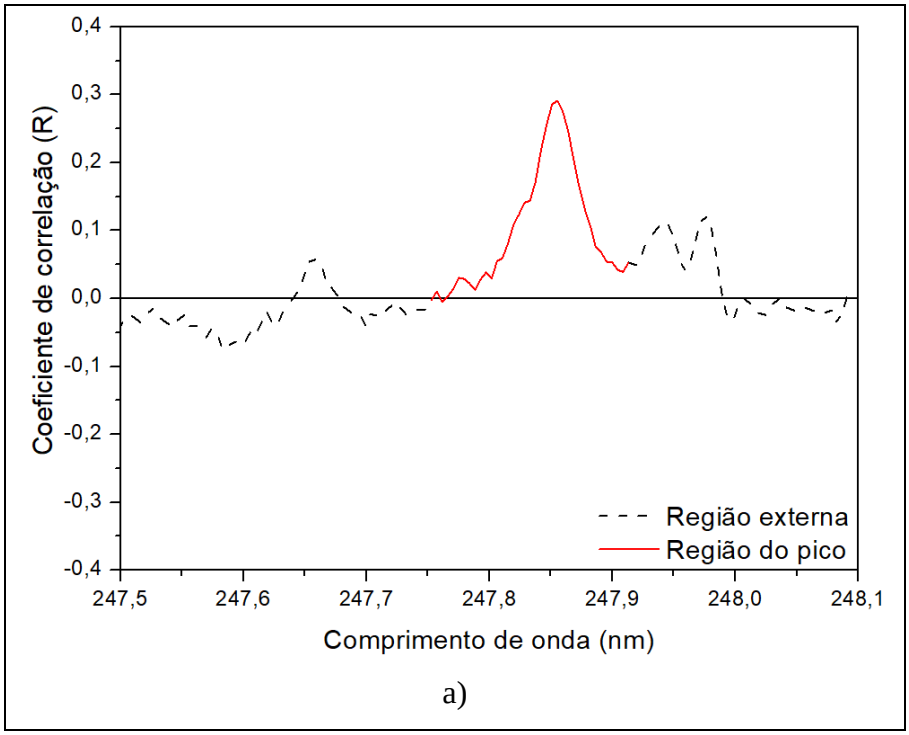
Fonte: Autoria própria

Dois estudos prévios foram realizados antes da busca por novos modelos de calibração. O primeiro a partir do gráficos de correlação (Figura 49) para a identificação da contribuição

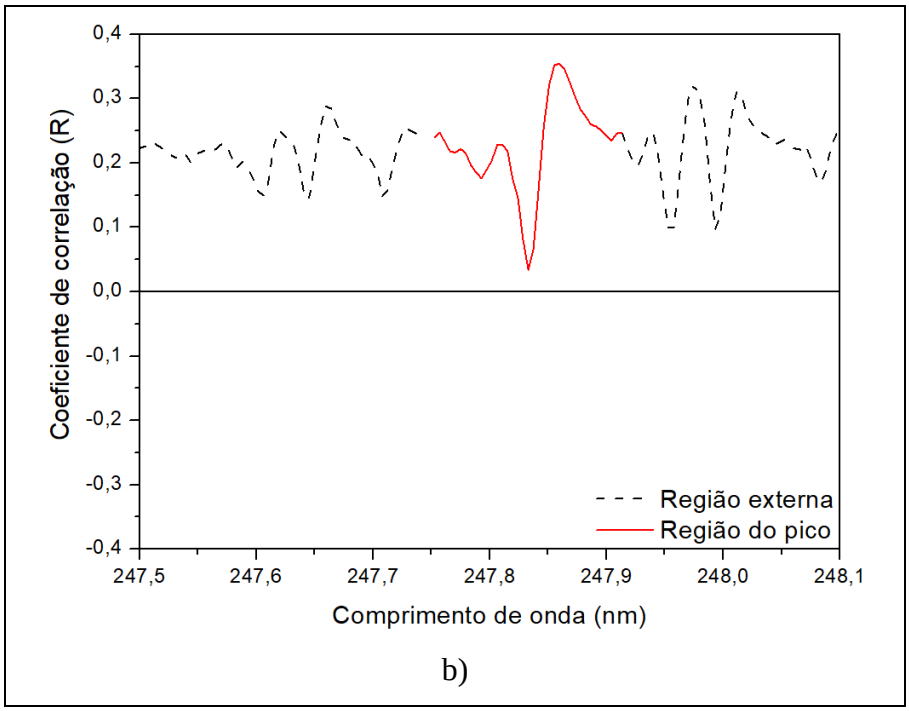
elementar para a intensidade do pico. Foram explorados os gráficos de correlação entre a região do pico, abrangendo a faixa espectral de 247,5 a 248,1 nm, e os valores de referência para C (Figura 49a), obtidos via CHN e os valores de Fe (Figura 49b), obtidos via AAS. O intuito dessa exploração foi identificar qual dos dois elementos estaria contribuindo mais para a intensidade do pico, buscando assim uma relação entre a técnica de referência e a técnica LIBS.

Para o gráfico de correlação entre a faixa espectral e os valores de C foi possível notar que a correlação tendeu a aumentar ao passo que se aproxima do ponto máximo do pico, e mais, o coeficiente de correlação tende a se tornar positivo quão mais se aproxima do pico, atingindo o valor máximo no centro do pico (Figura 49a). Já para o Fe, o comportamento foi sempre positivo em toda região, porém ao passo que se aproxima do topo do pico, o coeficiente de correlação também tende a aumentar (Figura 49b). Logo, pode-se dizer que a contribuição de ambos os elementos é alta.

Figura 49 - Gráfico de correlação (R) entre a região do pico e os valores de referência de a) Carbono e b) Ferro



a)

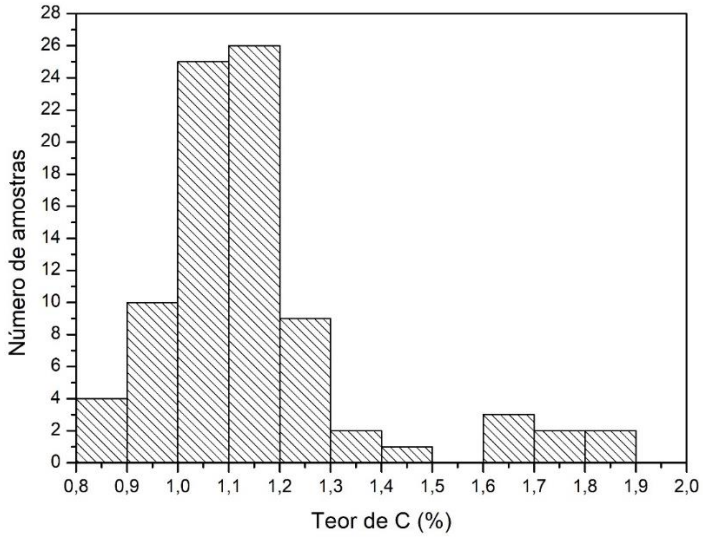


b)

Fonte: Autoria própria

O segundo estudo foi analisar a faixa de concentração de referência das amostras a serem utilizados para a criação dos modelos a partir do histograma das concentrações (Figura 50). Essas informações forneceram um indicativo prévio que a grande parte das amostras (51 amostras) apresenta concentração entre 1,0 e 1,2% (m/m), ou seja, trabalhar-se-á com uma faixa bem estreita de concentração com o intuito de se criar um modelo de calibração utilizando LIBS.

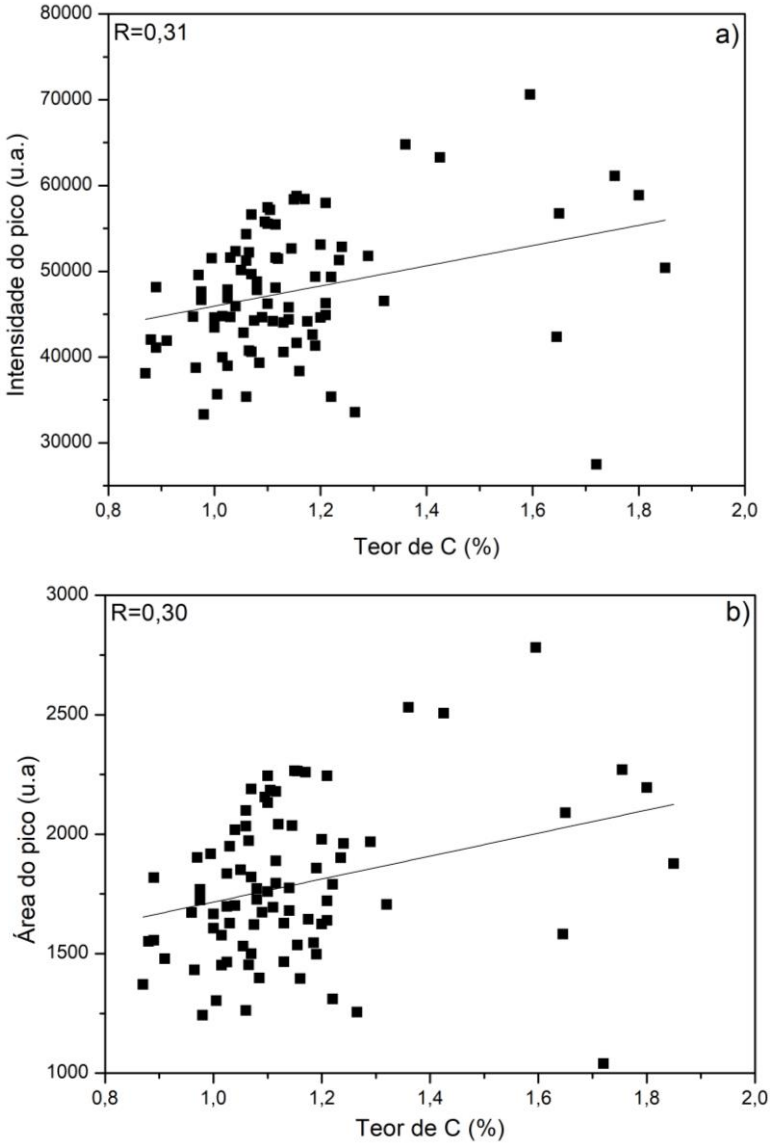
Figura 50 – Histograma dos teores de C (%) das amostras a serem utilizadas nos modelos

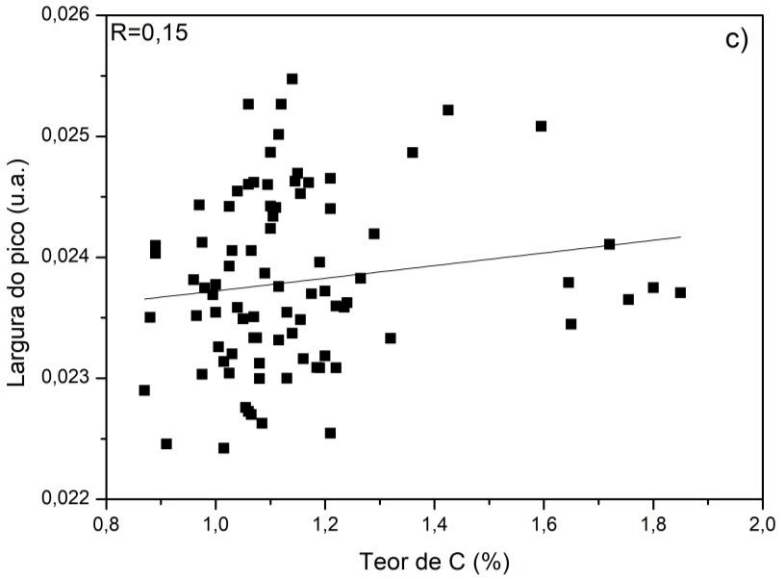


Fonte: Autoria própria

De posse desses estudos primários e assim como no caso do potássio, primeiramente fez-se uso da construção de modelos univariados, utilizando parâmetros primários do pico, tais como área, intensidade e largura a meia altura. A seguir são mostradas curvas de calibração utilizando a intensidade, área e a largura a meia altura do pico *versus* a concentração de C (%) de referência obtida por CHN (Figura 51).

Figura 51 - Modelos de calibração para C utilizando a) Intensidade; b) Área e c) Largura do pico (FHWM)





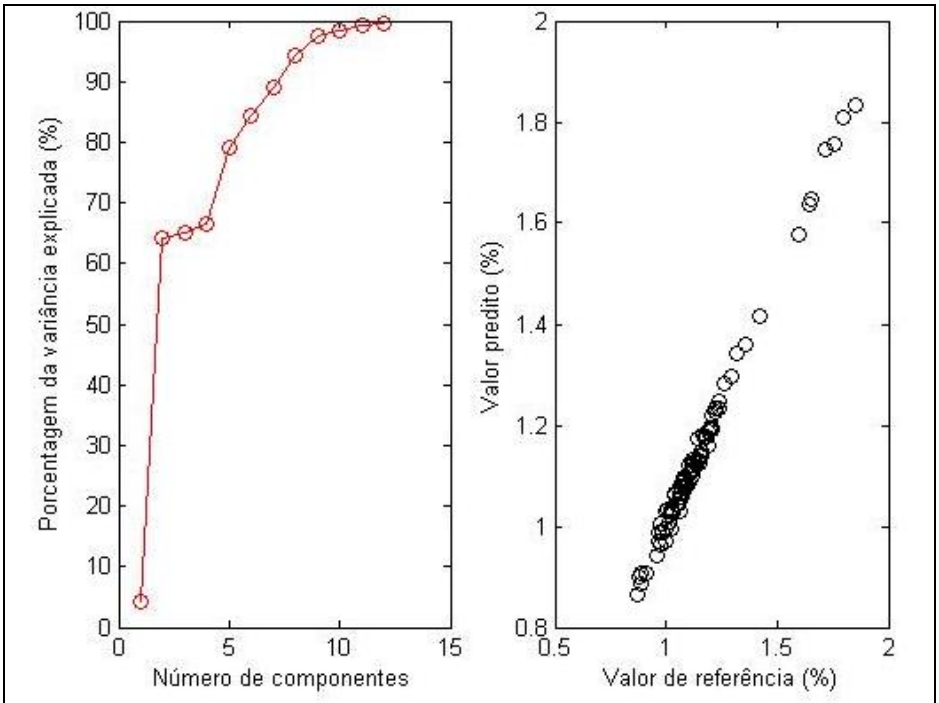
Fonte: Autoria própria

Notou-se uma baixíssima correlação entre os dados obtidos por LIBS e a técnica de referência utilizando modelos lineares univariados. Pode hipoteticamente ser explicado por uma possível contribuição de ferro na intensidade do pico, a qual provavelmente estaria influenciando negativamente para o sucesso do modelo. Perante a baixa qualidade desses resultados obtidos para carbono, buscou-se então obter-se melhores resultados utilizando modelos multivariados.

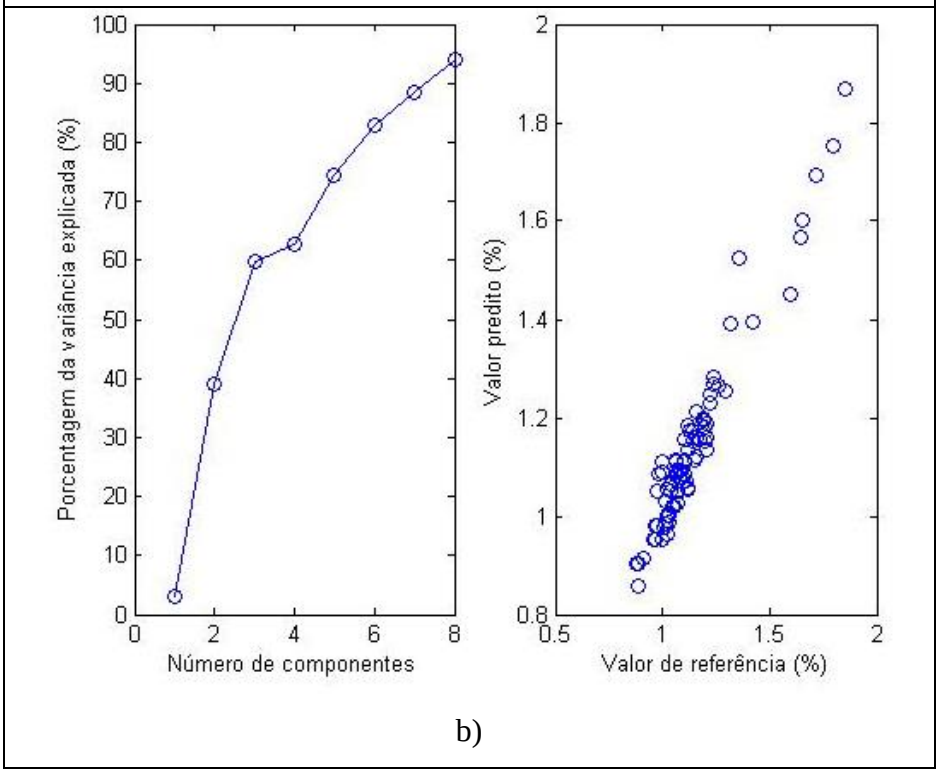
4.2.2.2 – Modelos multivariados

Na Figura 52 são mostrados os resultados utilizando PLS para construção do modelo de calibração para C utilizando a região espectral de 247 a 248,5nm, onde em a) utilizou-se 12 PCs e todas as 84 amostras como modelo esboço. Logo, baseado nesse resultado e para evitar-se o sobre-modelamento visível na curva entre valores de referência x valores preditos à direita de a), utilizou-se 8 PCs em b), já que a partir desse número de PCs é possível verificar aproximadamente 95% da variância explicada. Na Figura 52c são mostrados o espectro médio na região dos picos e os *loadings* de cada PC estudada. Na Figura 52d é mostrada a curva de calibração (pontos * em preto) e a curva de validação (pontos º em vermelho).

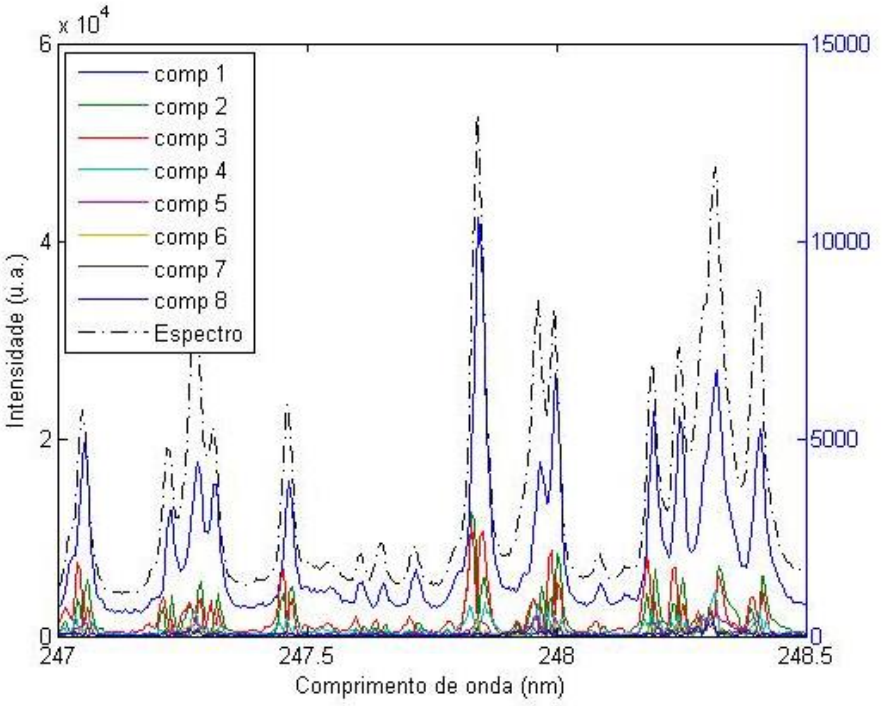
Figura 52 - Gráficos de saída do modelo utilizando PLS para a região espectral de 247 a 248,5 nm. a) variância explicada em função 12 PCs; b) variância explicada em função 8 PCs; c) espectro médio na região dos picos e os *loadings* de cada PC avaliada e d) o modelo de calibração e as amostras preditas pelo modelo.



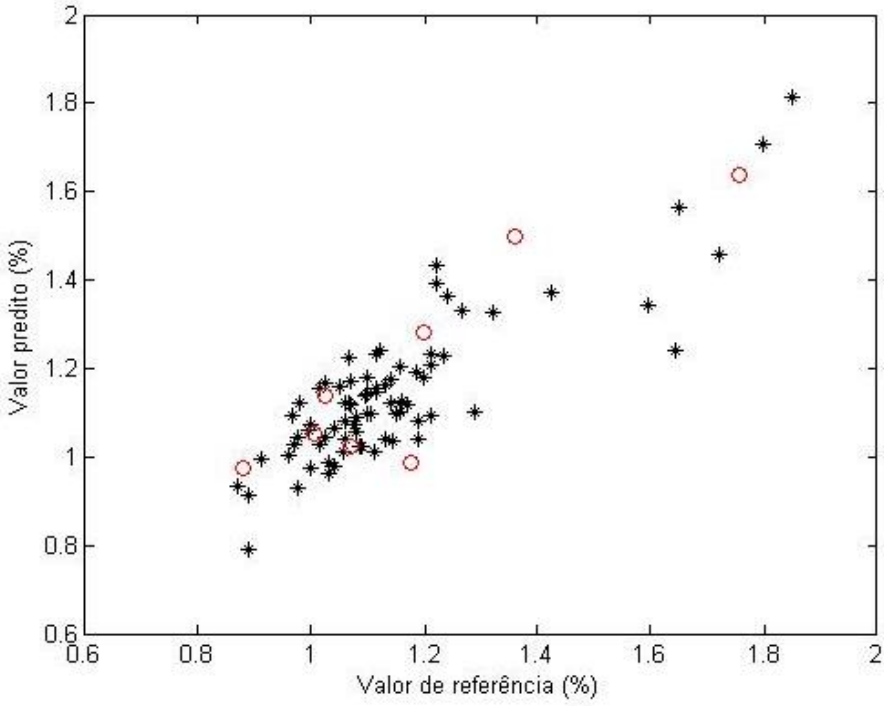
a)



b)



c)



d)

Fonte: Autoria própria

Para a construção do modelo de calibração para o carbono, os coeficientes de determinação para a calibração R_c^2 e para a predição R_p^2, foram respectivamente de 0,73 e 0,81. Já o RMSEC e RMSEP apresentaram valores de aproximadamente 0,10 e 0,11% respectivamente.

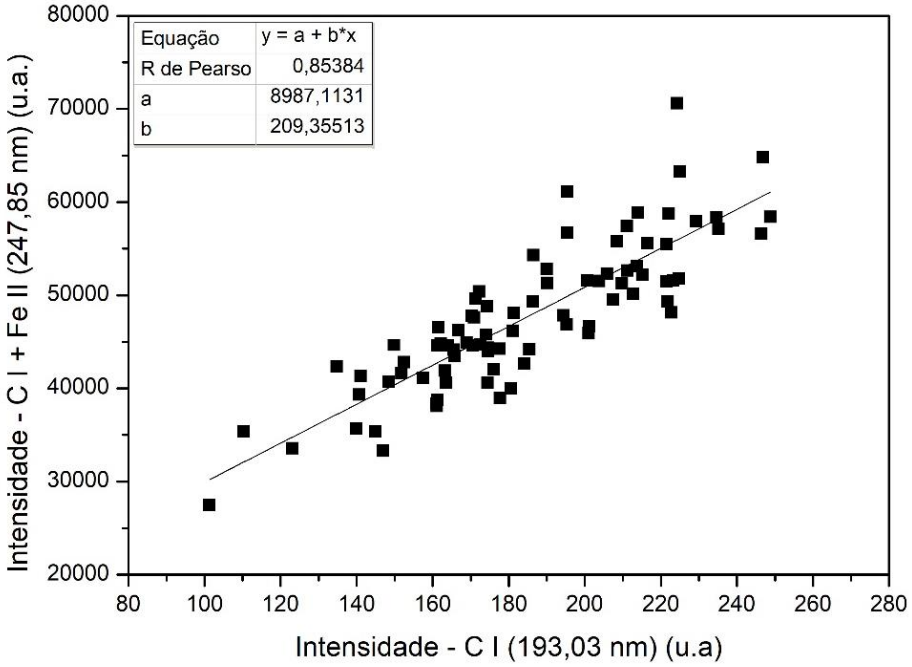
4.2.2.3 – Modelo em 3 dimensões

Nicolodelli e colaboradores (2014) trabalharam com a linha de C I em 193,03 nm interferida por Al II em 193.04 nm e Al I em 193.58 nm. Como a interferência entre C I e Al I é muito próxima, é possível observar apenas um pico, constituído por C I + Al I no qual há contribuição de ambos os elementos e não há resolução entre as linhas. Para contornar essa situação, os autores correlacionaram as linhas de Al I (interna ao pico) e Al II (externa ao pico), determinando um valor (α) de proporcionalidade entre elas, de acordo com os parâmetros de intensidade relativa preestabelecidos no banco de dados (NIST, 2013) com o intuito de se subtrair proporcionalmente a contribuição interna do Al I do pico C I + Al I. Com isso, matematicamente foi possível corrigir-se a área do pico C I + Al I, descontando-se a contribuição das emissões do alumínio.

4.2.2.3.1 – Calibração

Sabendo-se que o pico 247,85 nm teve boa correlação com os valores de referência de C através da Figura 49a, reforça-se essa conclusão gerando um gráfico de correlação entre as intensidades dos picos 193,03 nm e 247,85 nm, ambos de C I, porém interferidos por Al I e Fe II respectivamente (Figura 53). Mesmo tratando-se de dois picos interferidos, pode-se notar adequada correlação entre as linhas, sugerindo assim que a contribuição principal de ambos os picos fosse advinda das emissões de C.

Figura 53 - Correlação entre as intensidades das linhas 247,85 nm (C I + Fe II) e 193,03 nm (C I + Al I).



Fonte: Autoria própria

Como mencionado anteriormente, a linha 247,85 nm de C I é interferida por Fe II em 247,84 nm e Fe II em 247,85 nm (Figura 47) e como essa interferência não pode ser removida matematicamente por deconvolução, já os picos não tem resolução suficiente para a utilização de tal artifício, faz-se necessário o uso de outros métodos para trabalhar com tal pico de C.

Seguindo o mesmo raciocínio do trabalho citado (NICOLODELLI, MARANGONI *et al.*, 2014), buscou-se fazer o desconto da contribuição do pico de Fe II interna ao pico de C I porém utilizando um segundo pico de Fe II um pouco mais distante da região, em 247,07 nm. A escolha dessa linha para possível correção levou em consideração alguns preceitos físicos tais como, ambas as linhas (Fe II em 247,85 nm e Fe II em 247,07 nm) partissem dos mesmos níveis energéticos superior ($3d^6(^3F2)4p$) e inferior ($3d^6(^3F2)4s$) de emissão (Figura 54). Assim, garante-se que as duas linhas sejam passíveis de comparação garantindo a semelhanças entre elas.

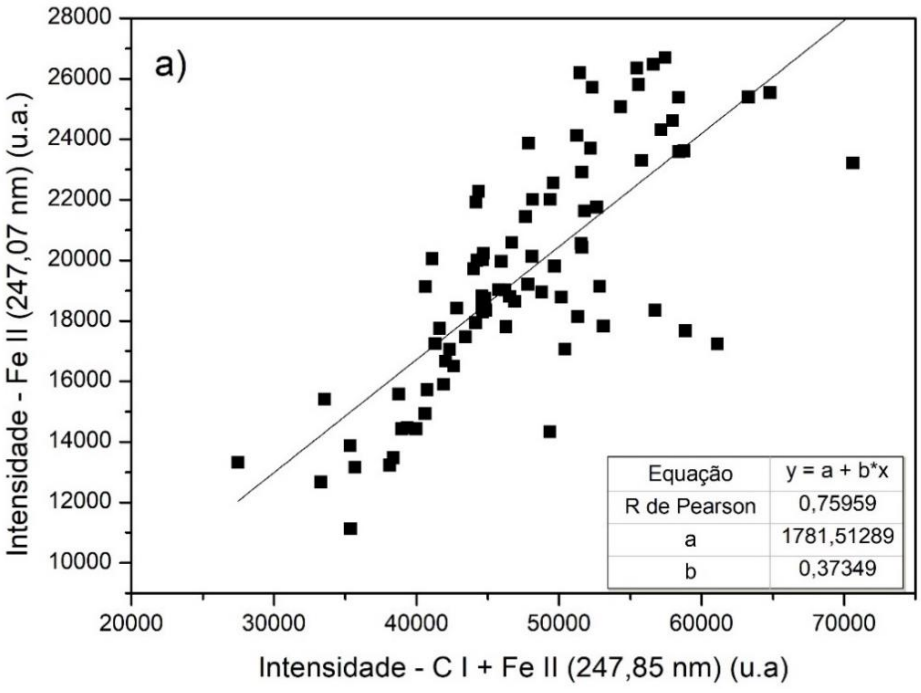
Figura 54 - Informações sobre as linhas de Fe do banco de dados NIST

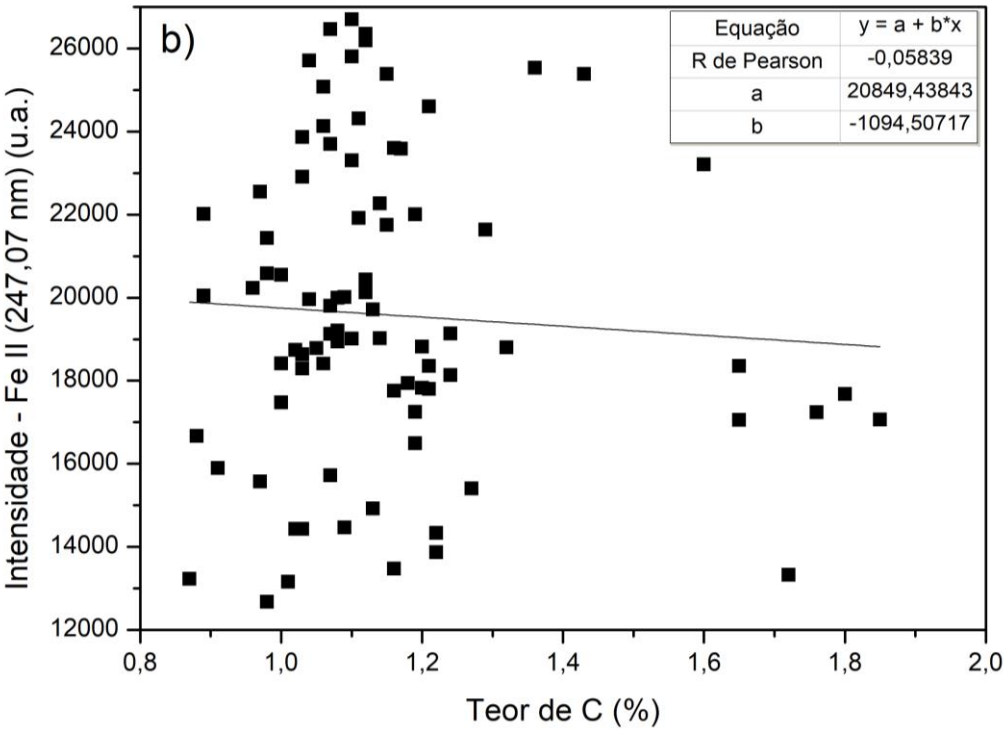
Ion	Observed Wavelength Air (nm)	Unc. (nm)	Ritz Wavelength Air (nm)	Unc. (nm)	Rel. Int. (?)	A_{ki} (s^{-1})	Acc.	E_i (cm^{-1})		E_k (cm^{-1})	Lower Level Conf., Term, J	Upper Level Conf., Term, J
Fe II	247.066913	0.000012	247.066910	0.000010	180000	1.54e+08	C+	22 810.3459	-	63 272.981	$3d^6(^3F2)4s$ b ^4F $^7/_2$	$3d^6(^3F2)4p$ x $^4D°$ $^5/_2$
Fe II	247.260515	0.000012	247.260515	0.000010	120000	3.22e+08	C+	44 753.8179	-	85 184.773	$3d^6(^5D)4p$ z $^4F°$ $^7/_2$	$3d^6(^5D)4d$ e ^4G $^9/_2$
Fe II	247.511692	0.000012	247.511681	0.000011	110000bl(Fe II)*	3.72e+08	B+	45 289.8248	-	85 679.755	$3d^6(^5D)4p$ z $^4F°$ $^3/_2$	$3d^6(^5D)4d$ e ^4G $^5/_2$
Fe II	247.511692	0.000012	247.511798	0.000011	110000bl(Fe II)*	2.0e+07	D+	66 377.315	-	106 767.226	$3d^6(^3G)4p$ x $^4F°$ $^7/_2$	$3d^6(^3F2)4d$ ^4F $^7/_2$
C I	247.85612	0.00010	247.856140	0.000019	640000000	2.8e+07	C+	21 648.030	-	61 981.83211	$2s^22p^2$ ^1S 0	$2s^22p3s$ $^1P°$ 1
Fe II	247.857194	0.000012	247.857199	0.000011	110000	9.1e+07	C+	22 939.3512	-	63 272.981	$3d^6(^3F2)4s$ b ^4F $^5/_2$	$3d^6(^3F2)4p$ x $^4D°$ $^5/_2$

Fonte: (NIST, 2013)

Além do gráfico da Figura 51a onde houve a tentativa de correlação entre as intensidades da linha 247,85 nm (C I + Fe II) com os teores de C obtidos pela técnica de referência, mais dois gráficos (Figura 55) foram construídos para desenvolvimento dessa abordagem. No primeiro, as intensidades do pico 247,85 nm (C I + Fe II) foram correlacionadas com as intensidades do pico 247,07 nm (Figura 55a). O coeficiente de correlação R foi de aproximadamente 0,76. Da mesma forma, na Figura 55b os valores de referência de C foram correlacionados com as intensidades da linha 247,07 nm.

Figura 55 - Correlação entre as intensidades das linhas a) 247,85 nm (C I + Fe II) e 247,07 nm (Fe II) e b) 247,07 nm (Fe II) e o teor de C (%).





Fonte: Autoria própria

Baseado nas correlações, nas informações contidas nos gráficos anteriormente citados e em trabalhos da literatura (Bai, Yao *et al*., 2016), gerou-se uma hipótese em que, de fato os pontos contidos nessas três curvas são os mesmos, porém esses pontos são projeções em planos XY de superfície tridimensional. Partindo dessa hipótese, gerou-se uma regressão linear multivariada (*Multiple Linear Regression*, MLR), segundo a *Equação 9*, característica de um plano.

$$Y = \left(X_{247,85} \pm \sigma_{247,85}\right) P_{247,85} + \left(X_{247,07} \pm \sigma_{247,07}\right) P_{247,07} \qquad \textit{Equação 9}$$

Sendo, $X_{247,85}$ e $X_{247,07}$ são os coeficientes angulares dos picos C I + Fe II (247,85 nm) e Fe II (247,07 nm), respectivamente; $\sigma_{247,85}$ e $\sigma_{247,07}$ são seus desvios e $P_{247,85}$ e $P_{247,07}$ são os valores de intensidade para cada comprimento de onda. Para a construção desse modelo prévio e geração desse cálculo, foi utilizada a função PROJ.LIN do EXCEL 2016 (MICROSOFT) onde a única condição de contorno imposta é que o plano em questão passe pela origem do sistema de coordenadas (0,0,0), ou seja, vinculando-se ao sentido físico de que se não há conteúdo de C medido, a intensidade do pico deve ser zero.

O modelo planar em três dimensões foi gerado utilizando os espectros médios das 84 amostras baseado na *Equação 9* genérica e utilizando a função computacional citada. Nele foram empregadas as intensidades das linhas 247,85 e 247,07 nm e os teores de C de referência e os coeficientes desse plano foram então obtidos e são mostrados na Tabela 10.

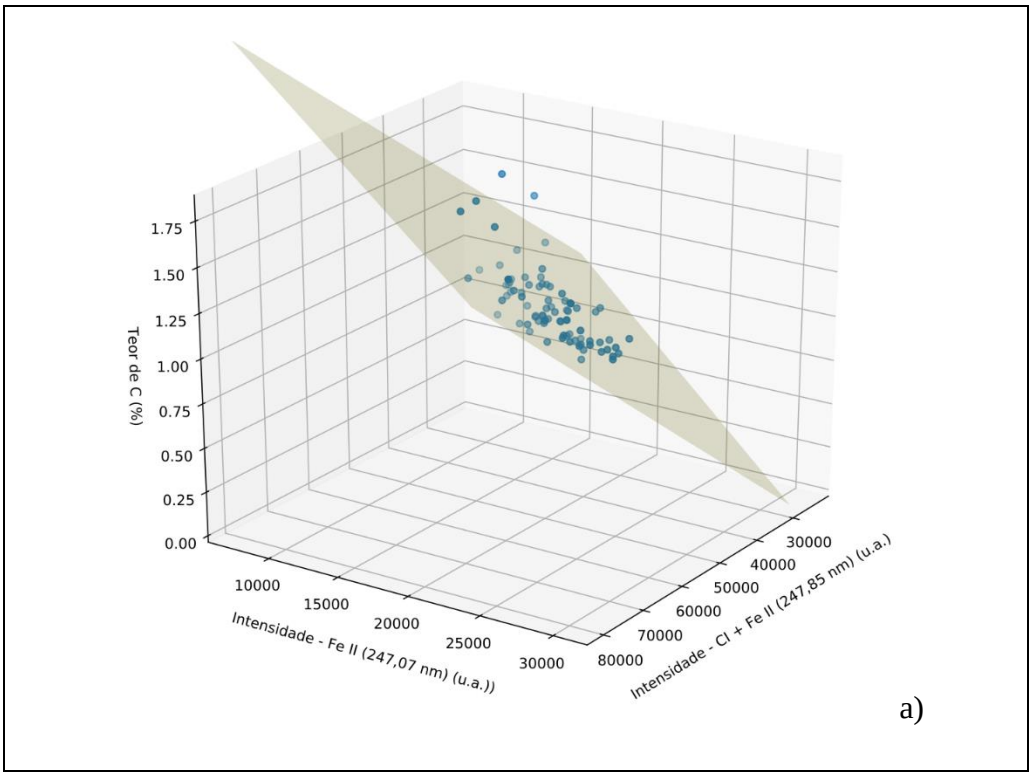
Tabela 10 – Coeficientes angulares e desvios do modelo planar em 3D construído bem como os coeficientes de correlação (R) e determinação (R^2).

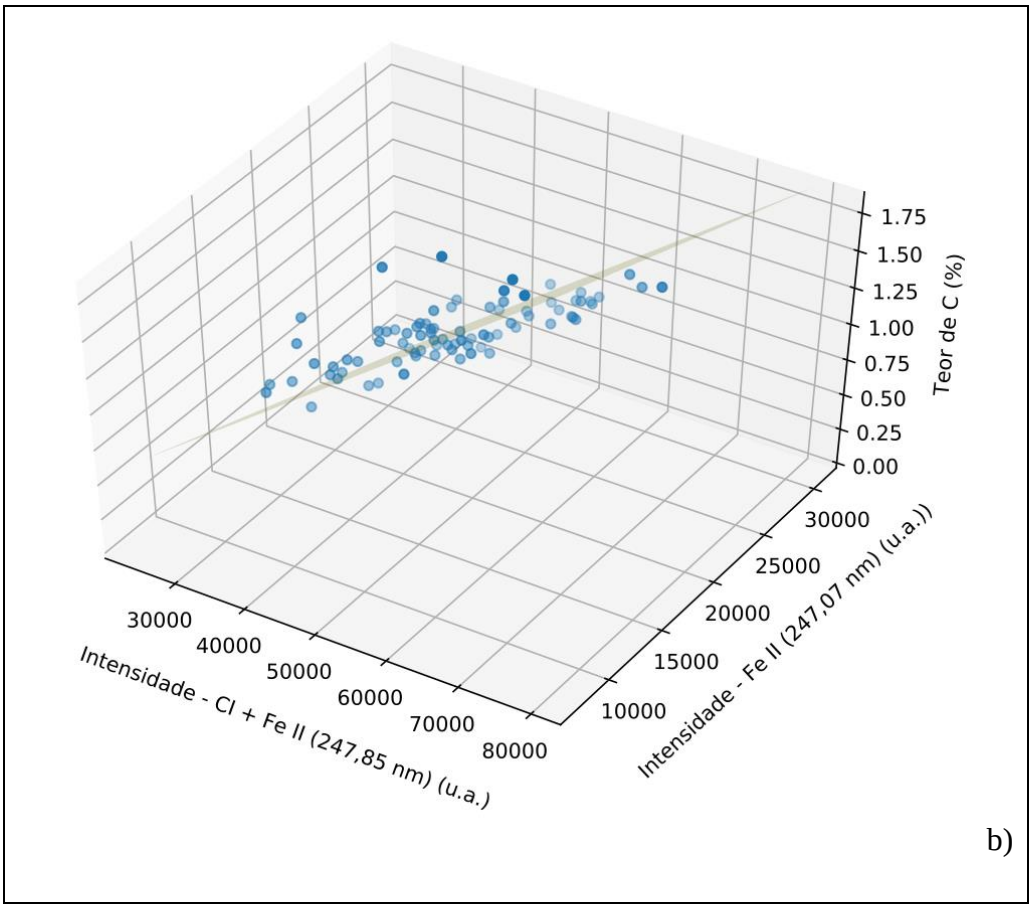
Modelo	$\mathbf{X_{247,85}}$	$\mathbf{\sigma_{247,85}}$	$\mathbf{X_{247,07}}$	$\mathbf{\sigma_{247,07}}$	$\mathbf{R^2}$	**R**
Intensidade (u.a)	3,64E-05	3,94E-06	-3,09E-05	9,53E-06	0,97	0,98

Fonte: Autoria própria

O gráfico em três dimensões obtido pela *Equação 9*, utilizando os coeficientes da Tabela 10 é mostrado em ângulos diferentes nas Figura 56a e b. Este gráfico é então a combinação dos três gráficos anteriores, Figura 51a, Figura 55a e Figura 55b. Cada uma das figuras é uma projeção do modelo mostrado na figura anterior. Em um eixo estão representadas as intensidades do primeiro pico (C I + Fe II) e em outro as intensidades do segundo pico (Fe II); ambos são uma função do teor de C e isso define um plano.

Figura 56 - Modelo planar em três dimensões utilizando todas as 84 amostras.





Fonte: Autoria própria

Gerado o primeiro modelo, com o intuito de um estudo prévio da hipótese utilizando todas as amostras, foi concretizada a suposição de que seria possível realizar a MLR utilizando informações de um pico do elemento interferente (Fe) na linha de emissão do elemento de interesse (C) para a criação do modelo.

O passo seguinte foi testar a robustez, o erro e a capacidade de predição do método. Para isso, do total de 84 amostras, foram separadas previamente 10 amostras e reservadas para a validação do modelo final, supondo serem amostras desconhecidas. As 74 amostras restantes passaram por três sorteios, onde em cada uma das três vezes, foram retiradas 10 amostras aleatórias para construção de três modelos diferentes. Também foi realizado o estudo sobre os LOD e LOQ do modelo gerado.

Os coeficientes das equações dos três modelos gerados pelas regressões, bem como o coeficiente de correlação R, coeficiente de determinação R^2 são apresentados Tabela 11. A partir das três novas equações, calculou-se a média dos coeficientes dos três modelos, bem como a qualidade dos ajustes a partir de R e R^2, gerando-se assim um modelo médio final.

Tabela 11 - Coeficientes angulares e desvios das três equações planares dos modelos 3D, bem como os coeficientes de correlação e determinação R e R^2.

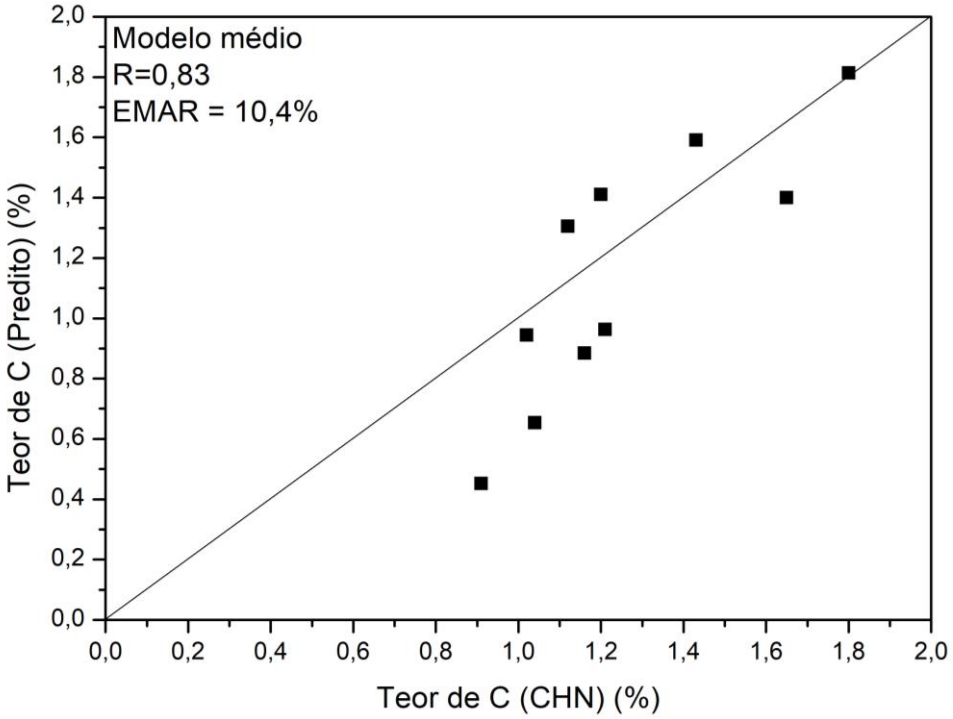
Modelo	$X_{247,85}$	$\sigma_{247,85}$	$X_{247,07}$	$\sigma_{247,07}$	R^2	R
1	3,09E-05	5,73E-06	-1,81E-05	1,38E-05	0,96	0,98
2	3,49E-05	5,21E-06	-2,67E-05	1,25E-05	0,96	0,98
3	3,69E-05	5,32E-06	-3,15E-05	1,29E-05	0,96	0,98
Média	3,42E-05	5,42E-06	-2,55E-05	1,31E-05	0,96	0,98
SD*	3,02E-06	2,76E-07	6,81E-06	6,54E-07	8,09E-04	4,13E-04

*SD = Desvio padrão. Fonte: Autoria própria

4.2.2.3.2 – Validação

Para a validação do modelo médio final, foram utilizadas as intensidades dos picos das 10 amostras separadas no início do estudo. Também foi calculado o EMAR analogamente a *Equação 8*. A curva de validação é apresentada na Figura 57.

Figura 57 - Curvas de validação dos modelos para quantificação de C utilizando LIBS



Fonte: autoria própria

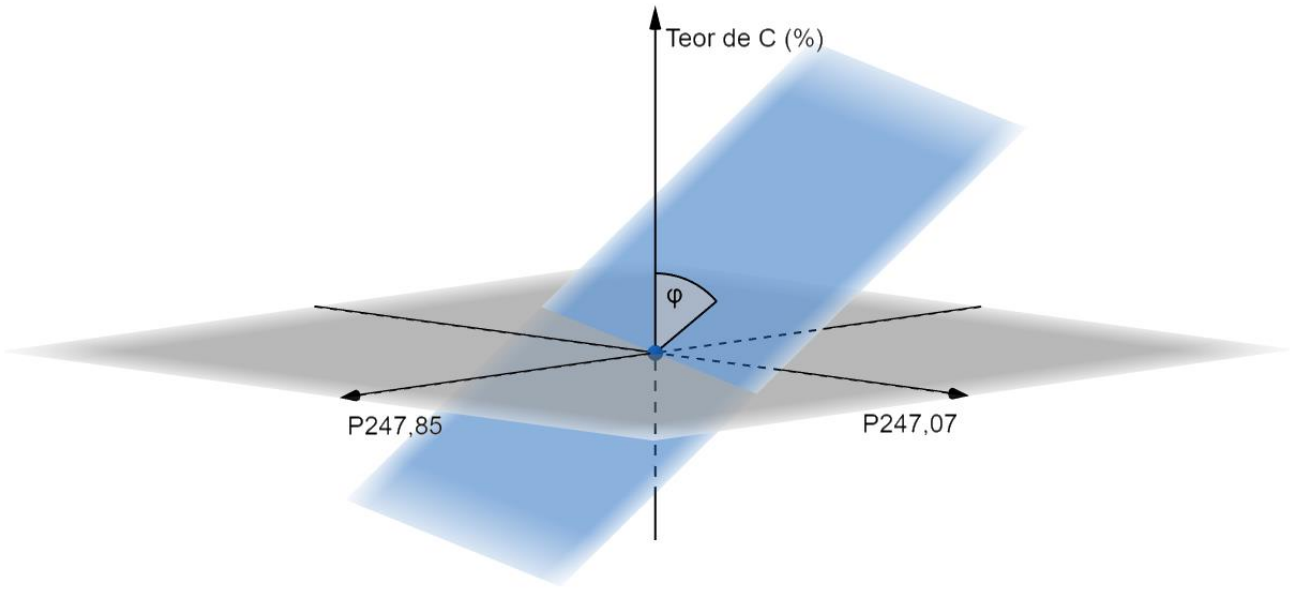
A partir da Tabela 11 e da Figura 57, pôde-se notar que não houve grandes variações entre os coeficientes entre os três modelos gerados, com coeficiente de correlação médio por

volta de 0,98 para as calibrações. Um ponto importante a se ressaltar é que os coeficientes $X_{247,85}$ e $X_{247,07}$ da equação do plano tem uma ordem de grandeza a mais que os erros $\sigma_{247,85}$ e $\sigma_{247,07}$ desses coeficientes, conferindo assim um melhor ajuste do plano.

4.2.2.3.3 – Cálculo dos LOD e LOQ do modelo 3D

Os métodos de determinação dos LOD e LOQ dos modelos foram enunciados anteriormente no item 2.4.4.5, nas *Equações 3 e 4*. Nas equações o SD é o desvio padrão das medidas do branco e *m* é coeficiente angular da curva de calibração. Porém, como nessas definições da IUPAC *m* é a tangente do ângulo θ entre a curva de calibração e o eixo das concentrações do analito (eixo X), para este caso do modelo planar foi necessário realizar uma adaptação dessa abordagem. Tratou-se então que φ seja o ângulo entre o plano modelado π e o eixo Z, correspondente às concentrações de referência de C (Figura 58) com o objetivo de determinou-se a tangente do ângulo φ ou seja, o coeficiente angular do modelo (m^{3D}).

Figura 58 – Demonstração gráfica da determinação do ângulo φ entre o plano π e o eixo (Z) das concentrações



Fonte: Autoria própria

Para a determinação da tangente do ângulo φ (m^{3D}) a qual será utilizada para o cálculo, escolheu-se dois pontos quaisquer $P(x_1,y_1,z_1)$ e $Q(x_2,y_2,z_2)$ quaisquer os quais estejam

localizados no plano π ajustado (Figura 59). Esses dois pontos podem ser escritos seguinte forma:

$$Ponto_{\pi} = (P_{247,85}, P_{247,07}, X_{247,85}P_{247,85} + X_{247,07}P_{247,07}) \qquad \textit{Equação 10}$$

Sendo, $X_{247,85}$ e $X_{247,07}$ são os coeficientes angulares dos picos C I + Fe II (247,85 nm) e Fe II (247,07 nm), respectivamente e $P_{247,85}$ e $P_{247,07}$ são os valores de intensidade para cada comprimento de onda.

Sabendo-se que foi imposta a condição de contorno em que o plano π passe pela origem do sistema de coordenadas O(0,0,0), determinou-se então dois vetores partindo da origem até os pontos P e Q, sendo eles $\overrightarrow{OP}$ e $\overrightarrow{OQ}$. Sabe-se também que o produto vetorial entre dois vetores coplanares é um vetor ortogonal ao plano π (BOULOS e CAMARGO, 1987) e que esse produto vetorial entre eles pode ser definido pela *Equação 11*:

$$\vec{n} = \overrightarrow{OP} \times \overrightarrow{OQ} = \begin{vmatrix} \vec{i} & \vec{j} & \vec{k} \\ x_1 & y_1 & z_1 \\ x_2 & y_2 & z_2 \end{vmatrix} \qquad \textit{Equação 11}$$

Sendo, $\vec{n}$ é o vetor normal aos vetores $\overrightarrow{OP}$ e $\overrightarrow{OQ}$ e, consequentemente, ao plano π, partindo da origem. O vetor normal $\vec{n}$ é dado pelo determinante da matriz acima.

De posse do vetor normal $\vec{n}$, tomou-se então um vetor $\vec{z}$ exatamente em cima do eixo Z e a partir produto escalar entre esse vetor $\vec{z}$ e o vetor normal $\vec{n}$, determinou-se o ângulo α entre eles através da *Equação 12* (BOULOS e CAMARGO, 1987). Como α+φ = 90º, então pode-se dizer que:

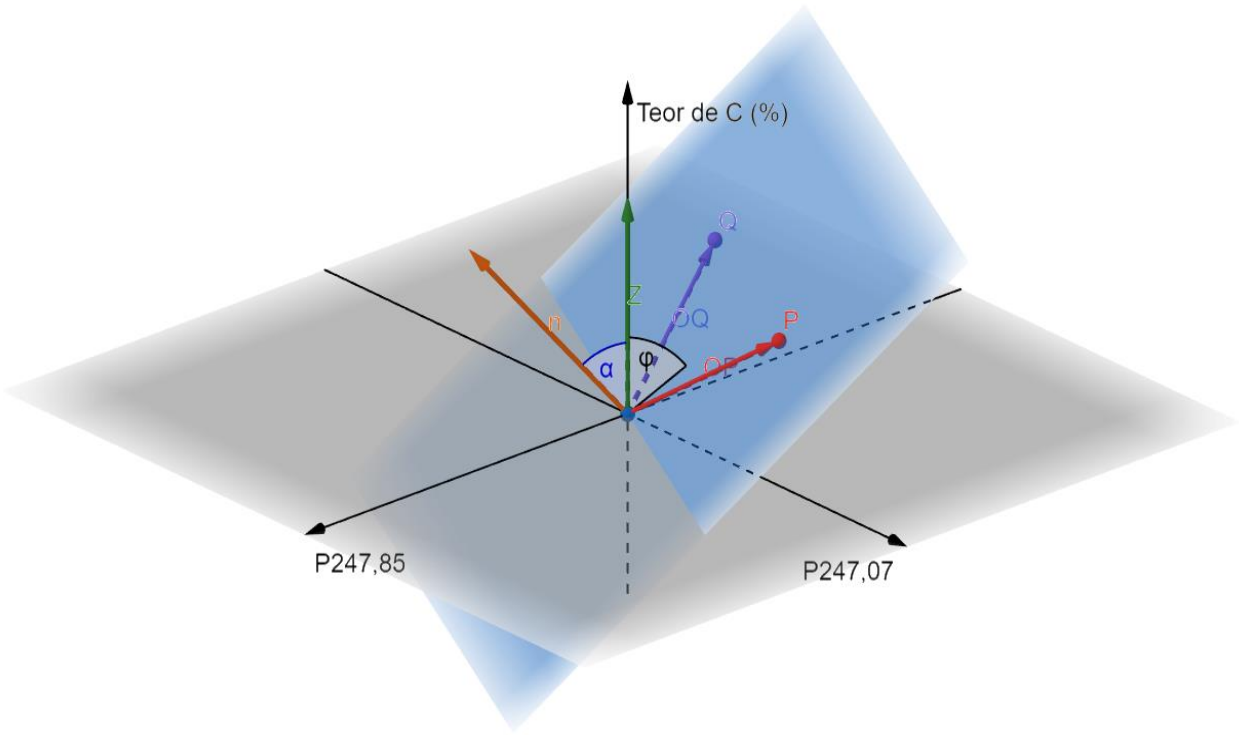
$$sen\varphi = \cos\alpha = \left[\frac{\vec{z} \cdot \vec{n}}{\|\vec{z}\| \|\vec{n}\|} \right] \qquad \textit{Equação 12}$$

Onde φ é o ângulo entre o eixo Z e o plano π modelado.

O ângulo φ no modelo em questão trata da distância do modelo ao eixo da concentração de referência e a tangente do ângulo φ será utilizada analogamente ao coeficiente angular *m* da curva de calibração em duas dimensões segundo a *Equação 13* e a Figura 59.

$$m^{3D} = tg\varphi = tg\left\{\arcsin\left[\frac{\vec{z}\cdot\vec{n}}{\|\vec{z}\|\|\vec{n}\|}\right]\right\} \qquad \textit{Equação 13}$$

Figura 59 – Representação gráfica para o cálculo de LOD e LOQ.



Fonte: Autoria própria

Calculada a $tg\varphi$, calculou-se o desvio padrão da região de ruído espectral e determinou-se o valor de LOD e LOQ a partir da *Equações 3 e 4*, nos fornecendo valores de 0,17% e 0,57%.

Portanto, a partir da *Equação 9* e os coeficiente determinados na Tabela 11, foram gerados modelos planares para a quantificação do teor C total para um conjunto de 84 amostras, independentemente das texturas das amostras ou dos efeitos matriciais, com alta correlação, de em média 98%, contando com LOD e LOQ de baixa ordem.

4.2.3 – Considerações parciais sobre os modelos criados

4.2.3.1 – Potássio

Na Tabela 12, é mostrado um resumo comparativo entre os modelos univariado e multivariado.

Tabela 12 – Comparativo entre os modelos univariado e multivariado para potássio

Modelos		Calibração			Validação			
	Pontos	**R**	**R^2**	**RMSEC (mg/kg)**	**R**	**R^2**	**EMAR (%)**	**RMSEP (mg/kg)**
Univariado	Espectrais	0,76	0,58	-	0,78	0,61	21,6	-
	Ajuste	0,65	0,42	-	0,64	0,41	35,8	-
Multivariado	Espectrais	0,91	0,83	41,7	0,87	0,75	-	49,5

Fonte: Autoria própria

No geral, os modelos univariados atenderam as expectativas, com adequadas correlações em ambas as etapas, de calibração e validação, assumindo EMAR da ordem aceitável para LIBS levando em consideração a propagação de erros advinda da associação entre a técnica de referência e a técnica em estudo. O modelo utilizando os pontos espectrais se mostrou melhor ajustado e com maior acurácia devido a fatores já mencionados anteriormente como possíveis perdas de informações na etapa de ajuste do pico (*peak fit*) para determinação da área. Também pode-se citar como vantagem a simplicidade de trabalhar com um modelo univariados, já que o modelo multivariado se torna inviável de ser criado sem o auxílio de artifícios computacionais e algoritmos matemáticos.

O modelo multivariado utilizando PLS se mostrou mais ajustado que os modelos univariados baseado nos coeficientes de correlação e determinação. Os valores de RMSE tanto para a calibração quanto para a validação apresentaram menores valores do que os modelos univariados, em torno de 45 mg/kg, ou seja, da ordem de 10% dos valores médios de referência.

É importante frisar a cautela necessária na escolha do número de PCs para a construção da regressão, já que o uso de números mais altos aumenta a possibilidade da ocorrência de sobre-modelamentos (*overfitting*) e regressões construídos a partir de dados incoerentes aos valores de referência reais da amostra.

Logo, ambas condições, tanto univariada quanto multivariada apresentaram potencial considerável como ferramentas para a construção de modelos para a determinação e

quantificação de elementos utilizando espectros LIBS, cada uma com suas vantagens e desvantagens.

4.2.3.2 – Carbono

No caso do carbono, foram estudados três métodos para a construção de modelos para a determinação e quantificação do elemento nas amostras de solo (Tabela 13).

Tabela 13 - Comparativo entre os modelos univariado e multivariado para carbono

	Calibração			Validação			
Modelos	**R**	**R^2**	**RMSEC (mg/kg)**	**R**	**R^2**	**EMAR (%)**	**RMSEP (mg/kg)**
Univariado	~0,3	-	-	-	-	-	-
Multivariado	0,85	0,73	0,10	0,9	0,81	-	0,11
Multivariado 3D	0,98	0,96	-	0,83	0,70	10,4	-

Fonte: Autoria própria

Primeiramente, ao contrário do resultado obtido para o potássio, utilizando modelos univariados não foi possível obter correlação aceitável para a construção de modelos para quantificação de carbono já que há uma forte interferência de ferro no pico em estudo. Por conta do resulto insatisfatório, não realizou-se a validação dos modelos univariados, seja utilizando as intensidades, áreas ou larguras à meia altura do pico.

Porém, esses resultados nos forneceram conceitos e ideias para uma hipótese, a qual nos gerou o modelo utilizando uma terceira linha de emissão para a correção da interferência de Fe no pico do C, a linha 247,07 nm utilizada para a construção do modelo com três dimensões. O modelo em três dimensões obtido apresentou ótima correlação nas três repetições para a construção do plano de calibração, em torno de 0,98.

Nesse trabalho enfatiza-se um ponto importante que foi a abordagem de uma faixa estreita de valores de referência para C, de 0,87 a 1,85% abrangendo cerca de 1% de amplitude, dados apresentados no histograma da Figura 50. Acredita-se então que com uma faixa maior de valores de referência, obter-se-á melhores ajustes em futuros modelos, já que as intensidades da linha interferida tenderá a aumentar proporcionalmente, influenciando diretamente os coeficientes do modelo. No entanto, a exploração dessa nova metodologia nos forneceu ótimos modelos, com altíssima correlação para calibração, EMARs da ordem de 10% e bons coeficientes de Pearson na validação externa.

Por fim, o modelo multivariado obtido empregando o PLS se revelou com boas correlações na calibração e validação e baixos valores de RMSEC e RMSEC, da ordem de 10% dos valores médios de referência.

Logo, para C não se obtive sucesso com o modelo linear univariados, mas com o modelo PLS foi possível obter correlação apropriada com erros baixos. No entanto, o modelo em 3D apresentou ótima correlação, ótima validação externa e EMARs da mesma ordem que o PLS, mas com a vantagem de trabalhar com menor custo computacional.

CAPÍTULO 5
CONCLUSÕES

Através dos resultados da dinâmica nutricional pôde-se concluir que os subprodutos apresentaram potencial não só como biofertilizantes, mas como importantes estocadores de C ao solo.

Para constatar-se a hipótese da utilização dos subprodutos como possíveis biofertilizantes e a partir dos dados obtidos nesse trabalho, pode-se criar duas situações hipotéticas. A primeira que, considerando a área de 4,5 milhões de ha de cana-de-açúcar plantada no estado de São Paulo na última safra (2018/19) e que fosse aplicado um dos mesmos subprodutos do trabalho, cujo teor médio de C fosse de 15% (média dos teores de C para os subprodutos compostados), na dose de 40 Mg ha^{-1} por aplicação ao um mesmo LVE mencionado no estudo, haveria o acúmulo de 27 milhões de toneladas (27 Mt) de C na área total plantada do estado.

Segundo a plataforma Sistema de Estimativa de Emissões de Gases de Efeito Estufa (SEEG, 2019) as estimativas de emissões dos GEEs em 2017 para o estado de SP foram de 169 Mt CO_2e considerando os 5 principais setores emissores: energia, uso da terra, agropecuária, subprodutos e indústria. O acúmulo de C estimado anteriormente corresponde a aproximadamente 16% da emissão de CO_2e do estado de SP em 2017.

Esse resultado nos mostra a grande capacidade de acúmulo de C advindo do uso dos subprodutos, considerando exclusivamente uma maximização do experimento corrente para uma área de solo com as mesmas características ao estudado no trabalho, ou seja, desconsiderando efeitos da vegetação, a qual não foi cultivada no experimento de incubação. Em estudos de campo anteriores, Carvalho (2015) constatou acúmulo de C no solo apenas na aplicação de cinza na cobertura da cultura em doses de 40 Mg ha^{-1}, já que o autor cita a probabilidade de a torta de filtro ter sido perdida para atmosfera por ação do vento.

Já a segunda hipótese tem o intuito de avaliar o impacto ambiental da aplicação desses subprodutos ao solo. Supõe-se uma propriedade média produtiva de cana-de-açúcar, de 50 ha de área de solo apresentando as mesmas características do solo testemunha desse trabalho, ou seja, aproximadamente 1% de C. Nela é realizada uma aplicação na dose de 40 Mg ha^{-1} do mesmo tratamento TF de nosso estudo cujo o teor de C é cerca de 40%. Nessa situação hipotética a adição de 40 Mg de subproduto em 50 hectares aportaria ao solo da propriedade cerca de 800 Mg de C muito lábil, os quais, segundo os dados apresentados, facilmente seriam

lançados à atmosfera, estimulando ainda o consumo microbiano do C já preexistente e a futura deterioração desse solo.

Essas situações hipotéticas corroboram para a necessidade e importância do processo de compostagem para estabilização desse C ao subproduto, diminuindo as chances de sua volatilização à atmosfera. Com isso enaltece-se o potencial de CC, TC, CA e CB como biofertilizantes e contribuintes para o aporte de C estável ao solo, aliadas aos valores nutricionais e contrapõe o uso de TF e CF devido às evidências ambientais.

Ainda do ponto de vista nutricional, conclui-se que a utilização de CB aplicado numa dose de 40 Mg ha^{-1} seria a mais proveitosa já que haveria entrada de aproximadamente 0,24 Mg ha^{-1} de N (considerando 0,6% de N em CB) aliadas às maiores concentrações de K, da ordem de 172 kg ha^{-1} de K (considerando $4{,}3.10^3$ mg de K por kg de solo para CB). A avaliação do ponto de vista de macro e micronutrientes mostrou que as concentrações de Mn e Zn nas amostras de solo incubado se mantiveram em torno de 140 e 90 mg/kg de solo respectivamente.

Outro ponto que deve ser salientado é a importância de um estudo dedicado exclusivamente a elementos contaminantes, tais como Cd, Cr, Ni e Pb, a fim de se obter informações pertinentes da dosagem que esses subprodutos poderão ser aplicados ao solo, respeitando os limites determinados por lei.

Fundamentado nos dados obtidos na primeira abordagem, foi possível estabelecer um estudo para o desenvolvimento de métodos para a quantificação de C e K nas amostras de solo incubado, obtendo-se boa correlação entre os valores determinados por CHN e AAS e as informações provenientes dos sistemas LIBS.

Para o desenvolvimento dos métodos de quantificação utilizando LIBS, o estudo prévio das linhas a serem utilizadas foi de essencial valia aliado ao estudo do gráfico de correlação o qual forneceu informações sobre a emissão dos elementos os quais estavam relacionados ao pico em questão. Os modelos univariados se mostraram mais simples, de baixa complexidade de construção e as situações de contorno tal como a integração parcial do pico revelou-se uma ótima alternativa para o contornar o efeito de auto-absorção. Os modelos multivariados se mostraram mais eficientes que os modelos univariados quando há a ocorrência de auto-absorção do pico. Também se mostraram funcionais e com resultados satisfatórios como solução para contornar a problemática da interferência de Fe nas amostras de solos. No entanto, esse tratamento não é trivial e possui alta complexidade do ponto de vista matemático e de implementação computacional, sendo assim imprescindível o uso de softwares matemáticos afim de que se torne transitável o processamento do volume de dados.

Tanto para a criação de modelos para quantificação de K quanto para C, ou qualquer outro elemento, enfatiza-se a importância de levar-se em consideração não só os conjuntos amostrais, mas também a complexidade das operações matemáticos e custos computacionais. Geralmente modelos univariados são mais simples de serem estudados tanto matematicamente quanto do ponto de vista de implementação, oferecendo assim vantagens aos usuários. Contudo, modelos multivariados já demandam maior dedicação computacional, construção de rotinas e *scripts*, habilidades as quais não são simples. Logo, modelos desse tipo são mais robustos e apresentam maiores precisões em relação a modelos univariados, porém, exigem esforços maiores.

Já com o novo método proposto para LIBS, utilizando três dimensões para a quantificação elementar em situações com grande interferência e baixa resolução do pico em estudo, foi possível realizar a quantificação com boa precisão de forma rápida, barata e sem geração de subprodutos.

5.1 – Reflexões finais

Os resultados contribuíram para o maior conhecimento dos solos tratados com esses subprodutos, quando comparados à parcela testemunha. Deverão gerar melhorias nos procedimentos de manejo, maiores informações sobre os teores e concentração desses subprodutos, bem como estimular a sustentabilidade da produção do etanol de cana-de-açúcar, destinando-os como vantajosos biofertilizantes. Além disso, este estudo enfatizou a importância do gerenciamento correto dos subprodutos evitando danos ambientais, além da produção científica para embasamento teórico que gerem o desenvolvimento de políticas públicas que normatizem a utilização desses subprodutos, bem como boas práticas de manejo (BPMs).

As técnicas CHN/S e o LIFS se mostraram ferramentas potenciais e complementares para a análise de solos sob a aplicação de subprodutos do processamento da cana-de-açúcar. Já a técnica LIBS mostrou a possibilidade de obtenção de resultados pertinentes à quantificação elementar de forma barata, limpa, demandando baixo tempo de preparo de amostras e analítico.

CAPÍTULO 6

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADORNA, J. C.; CRUSCIOL, C. A. C.; ROSSATO, O. B. Fertilization with filter cake and micronutrients in plant cane. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** Viçosa, v. 37, n. 3, p. 649-657, 2013.

ALMEIDA JÚNIOR, A. B. D.; NASCIMENTO, C. W. A. D.; SOBRAL, M. F.; SILVA, F. B. V. D.; GOMES, W. A. Fertilidade do solo e absorção de nutrientes em cana-de-açúcar fertilizada com torta de filtro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,** Capina Grande, v. 15, p. 1004-1013, 2011.

ARAÚJO, A. S. F.; SANTOS, V. B.; MONTEIRO, R. T. R. Responses of soil microbial biomass and activity for practices of organic and conventional farming systems in Piauí state, Brazil. **European Journal of Soil Biology,** Issy les Moulineaux Cedez, v. 44, n. 2, p. 225-230, 2008.

BAI, K.; YAO, S.; LU, J.; ZHAO, J.; XU, J.; LU, Z. Correction of C–Fe line interference for the measurement of unburned carbon in fly ash by LIBS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry,** Cambridge, v. 31, n. 12, p. 2418-2426, 2016.

BARAÚNA. **Processo de compostagem**. Catanduva, 2018. Disponível em: http://www.barauna.agr.br/solucoes_compostagem.php . Acesso em: 07 mar.2018.

BARBINI, R.; COLAO, F.; FANTONI, R.; PALUCCI, A.; RIBEZZO, S.; STEEN, H. J. L. V. D.; ANGELONE, M. Semi-quantitative time resolved LIBS measurements. **Applied Physics B,** Heidelberg, v. 65, n. 1, p. 101-107, 1997.

BARBINI, R.; COLAO, F.; LAZIC, V.; FANTONI, R.; PALUCCI, A.; ANGELONE, M. On board LIBS analysis of marine sediments collected during the XVI Italian campaign in Antarctica. **Spectrochimica Acta Part B:** atomic spectroscopy, Amsterdam, v. 57, n. 7, p. 1203-1218, 2002.

BHARALI, A.; BARUAH, K. K.; BHATTACHARYYA, P.; GORH, D. Integrated nutrient management in wheat grown in a northeast India soil: impacts on soil organic carbon fractions in relation to grain yield. **Soil and Tillage Research,** Amsterdam, v. 168, p. 81-91, 2017.

BINGS, N. H.; BOGAERTS, A.; BROEKAERT, J. A. C. Atomic spectroscopy: a review. **Analytical Chemistry,** Washington, v. 82, n. 12, p. 4653-4681, 2010.

BRICKLEMYER, R. S.; BROWN, D. J.; TURK, P. J.; CLEGG, S. Comparing vis–NIRS, LIBS, and Combined vis–NIRS-LIBS for Intact Soil Core Soil Carbon Measurement. **Soil Science Society of America Journal,** Madison, v. 82, n. 6, p. 1482-1496, 2018.

BOULOS, P.; OLIVEIRA, I C. **Geometria analitica:** um tratamento vetorial. Rio de Janeiro: Makron, 1987.

BURAKOV, V. S.; RAIKOV, S. N.; TARASENKO, N. V.; BELKOV, M. V.; KIRIS, V. V. Development of a laser-induced breakdown spectroscopy method for soil and ecological analysis (review). **Journal of Applied Spectroscopy,** New York, v. 77, n. 5, p. 595-608, 2010.

CAI, Z.; LIU, G.; ZHANG, J.; LI, Y. Development of an activity-directed selection system enabled significant improvement of the carboxylation efficiency of Rubisco. **Protein & Cell,** Heidelberg, v. 5, n. 7, p. 552-562, 2014.

CARVALHO, C. M. **Estudo do melhoramento do solo utilizando resíduos gerados na cadeia produtiva da cana-de-açúcar**: uma avaliação da matéria orgânica do solo empregando técnicas espectroscópicas. 2015. Tese (Doutorado em Física Aplicada) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

CERRI, C.; CERRI, C. E. Agricultura e aquecimento global. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo,** Viçosa, v. 32, p. 40-44, 2007.

CETESB. **Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo.** São Paulo, 2005. Disponível em: http://www.agsolve.com.br/pdf/artigos/novatabelacetesb2005.pdf . Acesso em: 23 jan. 2017.

CHANGE, C. **Working group I contribution to the IPCC fifth assessment report.** Zähringerstrasse, 2013. Disponível em: http://www.climatechange2013.org/images/report/WG1AR5_ALL_FINAL.pdf. Acesso em: 27 mar. 2019

CLEGG, S. M.; SKLUTE, E.; DYAR, M. D.; BAREFIELD, J. E.; WIENS, R. C. Multivariate analysis of remote laser-induced breakdown spectroscopy spectra using partial least squares, principal component analysis, and related techniques. **Spectrochimica Acta Part B:** atomic spectroscopy, Amsterdam, v. 64, n. 1, p. 79-88, 2009.

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Biochimie,** Issy les Moulineaux Cedex, v. 88, n. 11, p. 1707-1719, 2006.

CONAB. **Levantamento da safra de cana-de-açúcar**. Brasília, 2017. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar. Acesso em: 27 mar. 2019.

CORTEZ, L.; MAGALHAES, P.; HAPPI, J. Principais subprodutos da agroindústria canavieira e sua valorização. **Revista Brasileira de Energia,** Campinas, v. 2, n. 2, p. 111-146, 1992.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Pure and Applied Chemistry,** v. 67, n. 10, p. 1699-1723, 1995.

DA SILVA, R. M.; MILORI, D. M. B. P.; FERREIRA, E. C.; FERREIRA, E. J.; KRUG, F. J.; MARTIN-NETO, L. Total carbon measurement in whole tropical soil sample. **Spectrochimica Acta Part B:** atomic spectroscopy, Amesterdam v. 63, n. 10, p. 1221-1224, 2008.

DE FREITAS, L. C.; KANEKO, S. Ethanol demand in Brazil: regional approach. **Energy Policy,** London, v. 39, n. 5, p. 2289-2298, 2011a.

DE FREITAS, L. C.; KANEKO, S. Ethanol demand under the flex-fuel technology regime in Brazil. **Energy Economics,** Amsterdam, v. 33, n. 6, p. 1146-1154, 2011b.

DÖLL, M. M. R.; FORESTI, E. Efeito do bicarbonato de sódio no tratamento de vinhaça em AnSBBR operado a 55 e 35ºC. **Engenharia Sanitaria e Ambiental,** Rio de Janeiro, v. 15, p. 275-282, 2010.

EL HADDAD, J.; BRUYÈRE, D.; ISMAËL, A.; GALLOU, G.; LAPERCHE, V.; MICHEL, K.; CANIONI, L.; BOUSQUET, B. Application of a series of artificial neural networks to on-site quantitative analysis of lead into real soil samples by laser induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B:** atomic spectroscopy, Amsterdam, v. 97, p. 57-64, 2014.

EMBRAPA. **Etanol emite 73% menos CO2 que a gasolina**. São Paulo: 2009. Disponível em: http://economia.terra.com.br/etanol-emite-73-menos-co2-que-a-gasolina,f2084b47ee7da310VgnCLD200000bbcceb0aRCRD.html. Acesso em: 23 jan. 2017.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. p. 81-83.

FARAH, A. G. V. **Brazilian sugarcane industry**. São Paulo, 2013. Disponível em: http://thebrazilbusiness.com/article/brazilian-sugarcane-industry. Acesso em: 02 mar. 2018.

FEITOSA, D. G.; MALTONI, K. L.; SILVA, I. P. F. Avaliação da cinza oriunda da queima do bagaço da cana-de-açúcar na substituição da adubação química convencional para produção de alimentos e preservação do meio ambiente. **Revista Brasileira de Agroecologia,** Bento Gonçalves, v. 04, n. 02, p. 2412-2415, 2009.

FERNANDES, C.; CORÁ, J. E.; BRAZ, L. T. Reuse of sand, crushed sugarcane and peanut hull-based substrates for cherry tomato cultivation. **Scientia Agricola,** Piracicaba, v. 64, p. 630-635, 2007.

FERREIRA, E. C.; ANZANO, J. M.; MILORI, D. M.; FERREIRA, E. J.; LASHERAS, R. J.; BONILLA, B.; MONTULL-IBOR, B.; CASAS, J.; MARTIN NETO, L. Multiple response optimization of laser-induced breakdown spectroscopy parameters for multi-element analysis of soil samples. **Applied Spectroscopy,** Thousand Oaks, v. 63, n. 9, p. 1081-1088, 2009.

FERREIRA, E. C.; MENEZES, E. A.; MATOS, W. O.; MILORI, D. M. B. P.; NOGUEIRA, A. R. A.; MARTIN-NETO, L. Determination of Ca in breakfast cereals by laser induced breakdown spectroscopy. **Food Control,** Oxford, v. 21, n. 10, p. 1327-1330, 2010.

FIRME, L. P. **Cinética de degradação microbiológica de torta de filtro no solo na presença de cádmio e níquel.** 2005. 86 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

FIRME, L. P.; VILLANUEVA, F. C. A.; RODELLA, A. A. Solo contaminado com cádmio: extratibilidade do metal e cinética química de degradação da matéria orgânica de torta de filtro. **Química Nova,** São Paulo, v. 37, p. 956-963, 2014.

FRAVET, P. R. F. D.; SOARES, R. A. B.; LANA, R. M. Q.; LANA, Â. M. Q.; KORNDÖRFER, G. H. Efeito de doses de torta de filtro e modo de aplicação sobre a produtividade e qualidade tecnológica da soqueira de cana-de-açúcar. **Ciência e Agrotecnologia,** Lavras, v. 34, p. 618-624, 2010.

FREITAS, E. D. S. **Caracterização da cinza do bagaço da cana-de-açúcar do município de Campos dos Goytacazes para uso na construção civil**. 2005. 81 f. Dissertação (Mestrado em Estruturas) - Grupo de Materiais Cerâmicos, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2005.

GE, T.; YUAN, H.; ZHU, H.; WU, X.; NIE, S. A.; LIU, C.; TONG, C.; WU, J.; BROOKES, P. Biological carbon assimilation and dynamics in a flooded rice – soil system. **Soil Biology and Biochemistry,** Oxford, v. 48, p. 39-46, 2012.

GEBBERS, R.; ADAMCHUK, V. I. Precision agriculture and food security. **Science,** Washington, v. 327, n. 5967, p. 828-831, 2010.

HAHN, D. W.; OMENETTO, N. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), part I: review of basic diagnostics and plasma-particle interactions: still-challenging issues within the analytical plasma community. **Applied Spectroscopy,** Thousand Oaks, v. 64, n. 12, p. 335-66, 2010.

HAHN, D. W.; OMENETTO, N. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), Part II: review of instrumental and methodological approaches to material analysis and applications to different fields. **Applied Spectroscopy,** Thousand Oaks, v. 66, n. 4, p. 347-419, Apr 2012.

HEYDEN, Y. V.; BOQUÉ, R. The limit of detection. **LCGC Europe,** Chester, v. 22, n. 2, p. 82-85, 2009.

IPCC. **Contribuição do grupo de trabalho I ao quarto relatório de avaliação do painel intergovernamental sobre mudança do clima** - sumário para os formuladores de políticas. Genebra, 2007. Disponível em: http://www.ccst.inpe.br/wp-content/themes/ccst/pdf/IPCCWGI.pdf. Acesso em: 23 jan. 2017.

ISMAEL, A.; BOUSQUET, B.; MICHEL-LE PIERRES, K.; TRAVAILLE, G.; CANIONI, L.; ROY, S. In situ semi-quantitative analysis of polluted soils by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). **Applied Spectroscopy,** Thousand Oaks, v. 65, n. 5, p. 467-73, 2011.

JUNQUEIRA, C. D. Á. R.; MOLINA JUNIOR, V. E.; LOSSARDO, L. F.; FELICIO, B. D. C.; MOREIRA JUNIOR, O.; FOSCHINI, R. C.; MENDES, R. M.; LORANDI, R. Identificação do potencial de contaminação de aquíferos livres por vinhaça na bacia do Ribeirão do Pântano, Descalvado (SP), Brasil. **Revista Brasileira de Geociências,** São Paulo, v. 39, p. 507-518, 2009.

KAMIMURA, A.; SAUER, I. L. The effect of flex fuel vehicles in the Brazilian light road transportation. **Energy Policy,** Lodon, v. 36, n. 4, p. 1574-1576, 2008.

KESHAVA, N. Distance metrics and band selection in hyperspectral processing with applications to material identification and spectral libraries. **IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing,** Piscataway, v. 42, n. 7, p. 1552-1565, 2004.

KHWAIRAKPAM, M.; BHARGAVA, R. Bioconversion of filter mud using vermicomposting employing two exotic and one local earthworm species. **Bioresource Technology,** Amsterdam, v. 100, n. 23, p. 5846-5852, 2009.

KUZYAKOV, Y. Priming effects: interactions between living and dead organic matter. **Soil Biology and Biochemistry,** Oxford, v. 42, n. 9, p. 1363-1371, 2010.

LAB-TRAINING. **Launch certificate program atomic absorption spectroscopy**. New Delhi, 2014. Disponível em: http://lab-training.com/2014/11/28/launch-certificate-program-atomic-absorption-spectroscopy. Acesso em: 02 ago. 2018.

LEHMANN, J.; KLEBER, M. The contentious nature of soil organic matter. **Nature**, London, v. 528, p. 60, 2015.

LEYS, C.; LEY, C.; KLEIN, O.; BERNARD, P.; LICATA, L. Detecting outliers: do not use standard deviation around the mean, use absolute deviation around the median. **Journal of Experimental Social Psychology,** Maryland Heights, v. 49, n. 4, p. 764-766, 2013.

MAKUL, N.; SUA-IAM, G. Characteristics and utilization of sugarcane filter cake waste in the production of lightweight foamed concrete. **Journal of Cleaner Production,** Amsterdam, v. 126, p. 118-133, 2016.

MANZONI, S.; JACKSON, R. B.; TROFYMOW, J. A.; PORPORATO, A. The global stoichiometry of litter nitrogen mineralization. **Science,** Washington, v. 321, n. 5889, p. 684-6, 2008.

MARANGONI, B. S.; SILVA, K. S. G.; NICOLODELLI, G.; SENESI, G. S.; CABRAL, J. S.; VILLAS-BOAS, P. R.; SILVA, C. S.; TEIXEIRA, P. C.; NOGUEIRA, A. R. A.; BENITES, V. M.; MILORI, D. M. B. P. Phosphorus quantification in fertilizers using laser induced breakdown spectroscopy (LIBS): a methodology of analysis to correct physical matrix effects. **Analytical Methods,** v. 8, n. 1, p. 78-82, 2016.

MARTIN, M. Z.; MAYES, M. A.; HEAL, K. R.; BRICE, D. J.; WULLSCHLEGER, S. D. Investigation of laser-induced breakdown spectroscopy and multivariate analysis for differentiating inorganic and organic C in a variety of soils. **Spectrochimica Acta Part B:** atomic spectroscopy, Amsterdam, v. 87, p. 100-107, 2013.

MENG, D.; ZHAO, N.; MA, M.; FANG, L.; GU, Y.; JIA, Y.; LIU, J.; LIU, W. Application of a mobile laser-induced breakdown spectroscopy system to detect heavy metal elements in soil. **Applied Optics,** Washington, v. 56, n. 18, p. 5204-5210, 2017.

MEUNCHANG, S.; PANICHSAKPATANA, S.; WEAVER, R. W. Co-composting of filter cake and bagasse; by-products from a sugar mill. **Bioresource Technology,** Amsterdam, v. 96, n. 4, p. 437-442, 2005.

MILORI, D. M. B. P.; GALETI, H. V. A.; MARTIN-NETO, L.; DIECKOW, J.; GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; BAYER, C.; SALTON, J. Organic matter study of whole soil samples using laser-induced fluorescence spectroscopy. **Soil Science Society of America Journal,** Madison, v. 70, n. 1, p. 57-63, 2006.

MIZIOLEK, A. W. P., V.; SCHECHTER, I. **Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS):** fundamental and applications. New York: Cambridge University Press, 2006, 640 p.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **Atomic spectra database lines form**. Gaithersburg, 2013. Disponível em: https://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html. Acesso em: 29 out. 2018.

NICOLODELLI, G.; MARANGONI, B. S.; CABRAL, J. S.; VILLAS-BOAS, P. R.; SENESI, G. S.; DOS SANTOS, C. H.; ROMANO, R. A.; SEGNINI, A.; LUCAS, Y.; MONTES, C. R.; MILORI, D. M. B. P. Quantification of total carbon in soil using laser-induced breakdown spectroscopy: a method to correct interference lines. **Applied Optics,** Washington, v. 53, n. 10, p. 2170-2176, 2014.

NICOLODELLI, G.; SENESI, G. S.; DE OLIVEIRA PERAZZOLI, I. L.; MARANGONI, B. S.; DE MELO BENITES, V.; MILORI, D. M. B. P. Double pulse laser induced breakdown spectroscopy: a potential tool for the analysis of contaminants and macro/micronutrients in organic mineral fertilizers. **Science of The Total Environment,** Orlando, v. 565, p. 1116-1123, 2016.

NOMURA, C. S.; SILVA, C. S. D.; OLIVEIRA, P. V. Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: uma revisão. **Química Nova,** São Paulo, v. 31, p. 104-113, 2008.

OCHOA GEORGE, P. A.; ERAS, J. J. C.; GUTIERREZ, A. S.; HENS, L.; VANDECASTEELE, C. Residue from sugarcane juice filtration (filter cake): energy use at the sugar factory. **Waste and Biomass Valorization,** Dordrecht, v. 1, n. 4, p. 407-413, 2010.

OLK, D. C.; BLOOM, P. R.; PERDUE, E. M.; MCKNIGHT, D. M.; CHEN, Y.; FARENHORST, A.; SENESI, N.; CHIN, Y.-P.; SCHMITT-KOPPLIN, P.; HERTKORN, N.; HARIR, M. Environmental and agricultural relevance of humic fractions extracted by alkali from soils and natural waters. **Journal of Environmental Quality,** Madison, v. 48, n. 2, p. 217-232, 2019.

PASQUINI, C.; CORTEZ, J.; SILVA, L. M. C.; GONZAGA, F. B. Laser induced breakdown spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society,** São Paulo, v. 18, n. 3, p. 463-512, 2007.

PENG, J.; LIU, F.; ZHOU, F.; SONG, K.; ZHANG, C.; YE, L.; HE, Y. Challenging applications for multi-element analysis by laser-induced breakdown spectroscopy in agriculture: a review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry,** Amsterdam, v. 85, Part C, p. 260-272, 2016.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. **Soil Science,** Philadelphia, v. 166, n. 11, p. 810-832, 2001.

PISCITELLI, V.; MARTINEZ, M. A.; FERNANDEZ, A. J.; GONZALEZ, J. J.; MAO, X. L.; RUSSO, R. E. Double pulse laser induced breakdown spectroscopy: experimental study of lead emission intensity dependence on the wavelengths and sample matrix. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy,** Amsterdam, v. 64, n. 2, p. 147-154, 2009.

PLANAL. **Sustentabilidade**. São Paulo, 2018. Disponível em: http://planalservicos.com.br/sustentabilidade. Acesso em: 07 mar. 2018.

PRADO, R. D. M.; CAIONE, G.; CAMPOS, C. N. S. Filter cake and vinasse as fertilizers contributing to conservation agriculture. **Applied and Environmental Soil Science,** New York, v. 2013, p. 8, 2013.

QIAO, N.; XU, X.; HU, Y.; BLAGODATSKAYA, E.; LIU, Y.; SCHAEFER, D.; KUZYAKOV, Y. Carbon and nitrogen additions induce distinct priming effects along an organic-matter decay continuum. **Scientific Reports,** London, v. 6, p. 19865, 2016.

ROMERO, T. **Bagaço na construção civil**. São Paulo: FAPESP, 2007. Disponível em: http://www.unica.com.br/noticia/33630022920327850689/bagaco-de-cana-pode-ganhar-valor-substituindo-areia-na-construcao-civil. Acesso em 10 abr. 2016.

ROSSETTO, R.; SANTIAGO, A. D. **Adubação** - resíduos alternativos. Brasília: Embrapa 2012. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_39_711200516717.html. Acesso em: 24 jun. 2014.

RÜHLMANN, M.; BÜCHELE, D.; OSTERMANN, M.; BALD, I.; SCHMID, T. Challenges in the quantification of nutrients in soils using laser-induced breakdown spectroscopy – a case study with calcium. **Spectrochimica Acta Part B:** atomic spectroscopy, Amsterdam, v. 146, p. 115-121, 2018.

SÁ, J. C. D. M.; LAL, R.; CERRI, C. C.; LORENZ, K.; HUNGRIA, M.; DE FACCIO CARVALHO, P. C. Low-carbon agriculture in South America to mitigate global climate change and advance food security. **Environment International**, Oxford, v. 98, p. 102-112, 2017.

SANDIM, A.; VIAN, J. D.; SILVA, A. R. B.; CAMILI, E. C.; SILVA, P. R. A.; WOLF, M. J. **Avaliação da produtividade da cultivar RB83-5486 de cana-de-açúcar (Saccharum officiarum) em diferentes fontes fosfatadas na adubação de base em Campo Grande–MS.** Campo Grande: [*s.n*], 2009. Disponível em: http://www.yoorin.com.br/Publicacoes/Trabalhos_cientificos/Ensaio_campo_grande_yoorin_produtividade.pdf. Acesso em: 24 jun. 2014.

SANTANA, C. T. C. D.; SANTI, A.; DALLACORT, R.; SANTOS, M. L.; MENEZES, C. B. D. Desempenho de cultivares de alface americana em resposta a diferentes doses de torta de filtro. **Revista Ciência Agronômica,** Fortaleza, v. 43, p. 22-29, 2012.

SANTOS, D. H.; SILVA, M. D. A.; TIRITAN, C. S.; FOLONI, J. S. S.; ECHER, F. R. Qualidade tecnológica da cana-de-açúcar sob adubação com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,** Campina Grande, v. 15, n. 5, p. 443-449, 2011.

SANTOS, D. H.; TIRITAN, C. S.; FOLONI, J. S. S.; FABRIS, L. B. Produtividade de cana-de-açúcar sob adubação com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel. **Pesquisa Agropecuária Tropical,** Goiania, v. 40, n. 4, p. 454-461, 2010.

SANTOS JUNIOR, D.; TARELHO, L. V. G.; KRUG, F. J.; MILORI, D. M. B. P.; MARTIN-NETO, L.; VIEIRA JUNIOR, N. D. Espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) - fundamentos, aplicações e perspectivas **Revista Analytica,** São Paulo v. 24, p. 72-81, 2006.

SANTOS, L. M. **Dinâmica da matéria orgânica e destino de metais pesados em dois solos submetidos à adição de lodo de esgoto**. 2006. 142 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

SANTOS, M. E. R.; FONSECA, D. M. D.; BALBINO, E. M.; SILVA, S. P. D.; MONNERAT, J. P. I. D. S. Variabilidade espacial e temporal da vegetação em pastos de capim braquiária diferidos. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 39, p. 727-735, 2010.

SANTOS, V. R. D.; MOURA FILHO, G.; ALBUQUERQUE, A. W. D.; COSTA, J. P. V. D.; SANTOS, C. G. D.; SANTOS, A. C. I. D. Crescimento e produtividade agrícola de cana-de-açúcar em diferentes fontes de fósforo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,** Campina Grande, v. 13, p. 389-396, 2009.

SEABRA, J. E. A. **Avaliação técnico-econômica de opções para o aproveitamento integral da biomassa de cana no Brasil.** 2008. 274f. Tese (Doutorado em Planejamento de Sistemas Energéticos) - Escola de Engenharia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

SEGNINI, A. **Estrutura e estabilidade da matéria orgânica em áreas com potencial de sequestro de carbono no solo**. 2007. 131f. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

SEGNINI, A.; POSADAS, A.; QUIROZ, R.; BASTOS PEREIRA MILORI, D. M.; SAAB, S. C.; MARTIN-NETO, L.; PEDRO VAZ, C. M. Spectroscopic assessment of soil organic matter in wetlands from the high andes. **Soil Science Society of America Journal,** Madson, v. 74, n. 6, p. 2246-2253, 2010.

SEGNINI, A.; POSADAS, A.; QUIROZ, R.; MILORI, D. M. B. P.; VAZ, C. M. P.; MARTIN-NETO, L. Soil carbon stocks and stability across an altitudinal gradient in southern Peru. **Journal of Soil and Water Conservation,** Ankeny, v. 66, n. 4, p. 213-220, 2011.

SEGNINI, A.; XAVIER, A. A. P.; OTAVIANI-JUNIOR, P. L.; OLIVEIRA, P. P. A.; PEDROSO, A. D. F.; PRAES, M. F. F. M.; RODRIGUES, P. H. M.; MILORI, D. M. B. P. Soil carbon stock and humification in pastures under different levels of intensification in Brazil. **Scientia Agricola,** Piracicaba, v. 76, n. 1, p.33-40, 2019.

SEGNINI, A.; XAVIER, A. A. P.; OTAVIANI-JUNIOR, P. L.; FERREIRA, E. C.; WATANABE, A. M.; SPERANÇA, M. A.; NICOLODELLI, G.; VILLAS-BOAS, P. R.; OLIVEIRA, P. P. A.; MILORI, D. M. B. P. Physical and chemical matrix effects in soil carbon quantification using laser-induced breakdown spectroscopy. **American Journal of Analytical Chemistry,** Irvine, v. 5, p. 722-729, 2014.

SEN, B.; CHANDRA, T. S. Chemolytic and solid-state spectroscopic evaluation of organic matter transformation during vermicomposting of sugar industry wastes. **Bioresource Technology,** Amsterdam, v. 98, n. 8, p. 1680-1683, 2007.

SENESI, G. S.; SENESI, N. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) to measure quantitatively soil carbon with emphasis on soil organic carbon. A review. **Analytica Chimica Acta,** Amsterdam, v. 938, p. 7-17, 2016.

SISTEMA DE ESTIMATIVA DE EMISSÕES DE GASES DE EFEITO ESTUFA. **Emissões totais.** São Paulo, 2019. Disponível em: http://plataforma.seeg.eco.br/total_emission. Acesso em: 29 set. 2019.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Príncipios de análise instrumental**. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry:** genesis, composition, reaction. New York: Wiley Interscience, 1994. 443p.

SUN, D.; MA, Y.; WANG, Y.; SU, M.; LU, Q.; DONG, C. Determination of the limits of detection for aluminum-based alloys by spatially resolved single- and double-pulse laser-induced breakdown spectroscopy. **Analytical Methods,** Cambridge, v. 10, n. 22, p. 2595-2603, 2018.

TADINI, A. M.; NICOLODELLI, G.; MOUNIER, S.; MONTES, C. R.; MILORI, D. M. B. P. The importance of humin in soil characterisation: a study on Amazonian soils using different fluorescence techniques. **Science of The Total Environment,** Amsterdam, v. 537, p. 152-158, 2015.

TADINI, A. M.; NICOLODELLI, G.; SENESI, G. S.; ISHIDA, D. A.; MONTES, C. R.; LUCAS, Y.; MOUNIER, S.; GUIMARÃES, F. E. G.; MILORI, D. M. B. P. Soil organic matter in podzol horizons of the Amazon region: humification, recalcitrance, and dating. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 613-614, p. 160-167, 2018.

TELLECHEA, F. R. F.; MARTINS, M. A.; DA SILVA, A. A.; DA GAMA-RODRIGUES, E. F.; MARTINS, M. L. L. Use of sugarcane filter cake and nitrogen, phosphorus and potassium fertilization in the process of bioremediation of soil contaminated with diesel. **Environmental Science and Pollution Research,** Heidelberg, v. 23, n. 18, p. 18027-18033, 2016.

TIVET, F.; DE MORAES SÁ, J. C.; LAL, R.; MILORI, D. M. B. P.; BRIEDIS, C.; LETOURMY, P.; PINHEIRO, L. A.; BORSZOWSKEI, P. R.; DA CRUZ HARTMAN, D. Assessing humification and organic C compounds by laser-induced fluorescence and FTIR spectroscopies under conventional and no-till management in Brazilian Oxisols. **Geoderma,** Amsterdam, v. 207-208, p. 71-81, 2013.

TREVIZAN, L. C.; SANTOS, D.; SAMAD, R. E.; VIEIRA, N. D.; NUNES, L. C.; RUFINI, I. A.; KRUG, F. J. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of micronutrients in plant materials. **Spectrochimica Acta Part B:** atomic spectroscopy, Amsterdam, v. 64, n. 5, p. 369-377, 2009.

UNITED STATES. Environmental Protection Agency. **Method 3050b**: acid digestion of sediments, sludges, and soils. Washington, 1996. Disponível em: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/epa-3050b.pdf. Acesso em: 28 jan. 2017.

VARGAS, K. S.; SCHIAVINI, J. M.; SCHREINER, J. S. D. R.; MOURA, G. L. D.; SCHERER, F. L. Technological innovation as means of sustainable development in the sector of environmental sanitation. **Espacios,** Caracas, v. 33, n. 11, p. 9, 2012.

VAZ, S.; LOPES, W. T.; MARTIN-NETO, L. Study of molecular interactions between humic acid from Brazilian soil and the antibiotic oxytetracycline. **Environmental Technology & Innovation,** Amsterdam, v. 4, p. 260-267, 2015.

VITTI, G. C.; QUEIROZ, F.; OTTO, R.; QUINTINO, T. Nutrição e adubação da cana-de-açúcar. Bebedouro, [*s.n.*], p. 15-18, 2005.

WANG, H.; BOUTTON, T. W.; XU, W.; HU, G.; JIANG, P.; BAI, E. Quality of fresh organic matter affects priming of soil organic matter and substrate utilization patterns of microbes. **Scientific Reports,** London, v. 5, p. 10102, 2015.

XAVIER, A. A. P. **Avaliação do acúmulo e emissão de carbono do solo sob sistemas produtivos de pastagem**. 2014; 101 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

XAVIER, A. A. P.; NICOLODELLI, G.; TADINI, A. M.; CORÁ, J. E.; VILLAS-BOAS, P. R.; MILORI, D. M. B. P. Evaluation of carbon content and humification index of soils under the application of by-products from sugarcane processing. **Microchemical Journal,** Philadelphia, v. 149, p. 104041, 2019.

ANEXOS

A - PUBLICAÇÕES

Microchemical Journal 149 (2019) 104041

Contents lists available at ScienceDirect

Microchemical Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/microc

Evaluation of carbon content and humification index of soils under the application of by-products from sugarcane processing

Alfredo Augusto Pereira Xavier[a,b,*], Gustavo Nicolodelli[c], Amanda Maria Tadini[a], José Eduardo Corá[d], Paulino Ribeiro Villas-Boas[a], Débora Marcondes Bastos Pereira Milori[a]

[a] Embrapa Instrumentation, São Carlos, SP, Brazil
[b] São Carlos Chemistry Institute, University São Paulo, São Carlos, SP, Brazil
[c] Physics Institute, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazil
[d] Soil Department, São Paulo State University (UNESP), Jaboticabal, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Filter cake
Sugarcane bagasse ash
Carbon
LIFS
Humification index
Environmental regulation

ABSTRACT

The sugarcane processing generates by-product such as, sugarcane bagasse ash and filter cake and their proper disposal is of great environmental responsibility. Nowadays these by-products are being used for soil biofertilization without protocol. This study aimed to evaluate the applying these by-products to a single kind of soil in relation to the amount of carbon (C) and nitrogen (N) and stability of soil organic matter (SOM) through incubations varying the time. The bio-residues were applied to the soil at a proportional dose of 40 Mg ha^{-1} and 10 times periods were defined. Elemental Analysis was used to determine C and N and Fluorescence Spectroscopy was used to evaluate the humification index (H_{LIFS}) of the SOM. The control treatment did not show high variations of C during the experiment and its average value was less than 1.0% (m/m). The highest C values were obtained for fresh filter cake (TF), whose C content was 1.8% in the beginning of the experiment and, after 1 year, it was 1.16%, presenting an exponential decay. The C results were in the range of 1.0% to 1.2% for all the other treatments and did not present a statistically significant difference throughout the experiment. For H_{LIFS}, it was the opposite. The lowest C values were obtained for TF, which also presented an exponential increase over the experiment, showing a fresh OM input in the beginning of the experiment and humification process over the time. For the other treatments, H_{LIFS} had no statistically significant differences. The high levels of C for TF emphasize the importance of studies of SOM regarding the priming effect. Thus, this study indicates the need to create ordinances for the use of these by-products and guide lines for the correct management and application in the soil without any harm to the environment.

1. Introduction

The production of alcohol and sugar generates waste or by-products such as: vinasse, filter cake (FC), sugarcane bagasse ash (SCBA), soot and wastewater. Each ton of processed sugarcane generates about 250 kg of bagasse, which is burned for generating 560,000 kcal of electrical energy and 25 kg of SCBA after the burning process. This heat and energy amount can supply a portion of energy demand from sugar and alcohol production process, which avoids fossil fuel use [1]. For the same amount of sugar cane processed, approximately 50 kg of FC are generated. One ton of sugarcane also produces 70 L of ethanol (which provides 392,000 kcal) and 15 L of vinasse per liter of alcohol generated [1–3].

In Brazil, vinasse is regulated for use in fertigation [4]. On another hand, SCBA and FC have been used for biofertilization, but isn't regulated by councils such as Environmental Sanitation Technology Company. Biofertilizers has a great importance in the economy of agriculture and livestock since mineral fertilizers are sold at high prices [2,5].

The composting practice is well known and has a great importance for compost maturation. It is a suggested alternative and has been used for the management of FC and SCBA [6]. The studies on the characterization and effects of the application of FC and SCBA have been carried out to establish optimized parameters, such as ideal rates, better results, and management without environmental loss [7–9]. Therefore, the correct and adequate management of by-products of the sugarcane production chain is an important matter either by applying excessive rates or by ignoring the concentrations of the elements present in these

* Corresponding author at: Embrapa Instrumentation, São Carlos, SP, Brazil.
E-mail address: alfredoapxavier@outlook.com (A.A.P. Xavier).