



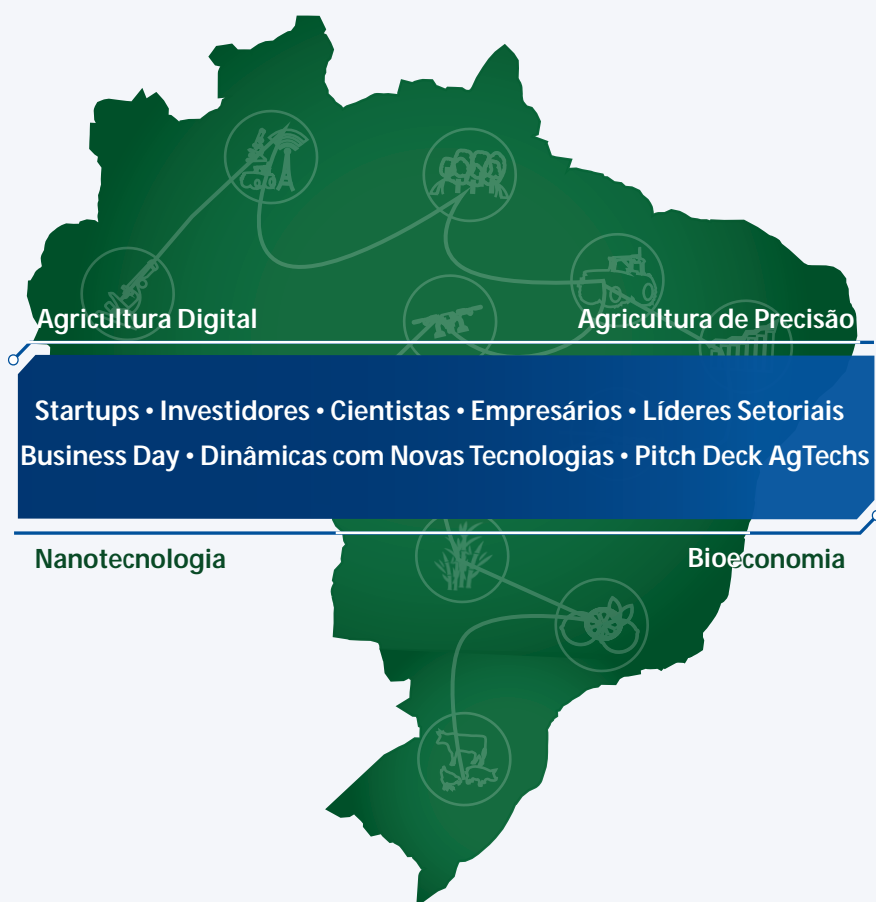
Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária

# SIAGRO

Ciência, Inovação e Mercado

03 a 05 de dezembro de 2019  
Embrapa Instrumentação

## Anais



ISSN 2358-9132

### Editores

Paulino Ribeiro Villas-Boas

Maria Alice Martins

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori

Ladislau Martin-Neto

**Embrapa**

Instrumentação



ISSN 2358-9132

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Instrumentação  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**Simpósio Nacional de  
Instrumentação Agropecuária**

**Anais do SIAGRO**

**Ciência, Inovação e Mercado 2019**

Paulino Ribeiro Villas-Boas  
Maria Alice Martins  
Débora Marcondes Bastos Pereira Milori  
Ladislau Martin-Neto

**Editores**

Embrapa Instrumentação

São Carlos, SP

2019

**Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:**

**Embrapa Instrumentação**

Rua XV de Novembro, 1452  
Caixa Postal 741  
CEP 13560-970 - São Carlos-SP  
Fone: (16) 2107 2800  
Fax: (16) 2107 2902  
www.embrapa.br/instrumentação  
E-mail: www.embrapa.br/fale-conosco

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: José Manoel Marconcini  
Secretária executiva: Maria do Socorro Gonçalves de Souza Monzane  
Membros:  
Carlos Renato Marmo  
Cíntia Cabral da Costa  
Cristiane Sanchez Farinas  
Elaine Cristina Paris  
Maria Alice Martins  
Paulo Renato Orlandi Lasso  
Capa - Desenvolvimento: NCO; criação: Maria Luisa Tinoco de Oliveira  
Editoração eletrônica: Valentim Monzane

**1ª edição**

1ª impressão (2019): tiragem 300

As opiniões, conceitos, afirmações e conteúdo desta publicação são de exclusiva e de inteira responsabilidade dos autores, não exprimindo, necessariamente, o ponto de vista da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados internacionais de catalogação (CIP)**

**Embrapa Instrumentação**

---

S612 Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária. Anais do SIAGRO: ciência, inovação e mercado 2019. / Paulino Ribeiro Villas-Boas, Maria Alice Martins, Débora Marcondes Pereira Milori, Ladislau Martin-Neto, editores. – São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2019.

ISSN 2358-9132

1. Instrumentação agropecuária. 2. Automação de processos agrícolas. 3. Agricultura de precisão. 4. Sensores. 5. Equipamentos agrícolas. 6. Monitoramento. 7. Nanotecnologia. 8. Modelagem. 9. Métodos avançados. 10. Inovação. 11. Tecnologias convergentes. I. Villas-Boas, P. R. II. Martins, M. A. III. Milori, D. M B. P. IV. Martin-Neto, L.

CDD 21 ED 681.763

## **Editores**

### **Paulino Ribeiro Villas-Boas**

Físico, D.Sc. Física pela Universidade de São Paulo.  
Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

### **Maria Alice Martins**

Engenheira Química, D.Sc. em Química pela Universidade Estadual de Campinas.  
Pesquisadora da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

### **Débora Marcondes Bastos Pereira Milori**

Física, D.Sc. em Física pela Universidade de São Paulo.  
Pesquisadora da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

### **Ladislau Martin-Neto**

Físico, D.Sc. Física pela Universidade de São Paulo.  
Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

## Comitê Científico

Alexandre Berndt	Embrapa Pecuária Sudeste
Amanda S. Giroto	Embrapa Instrumentação
Andre Torre Neto	Embrapa Instrumentação
Ariovaldo Luchiari Junior	Embrapa Informática
Carlos M. P. Vaz	Embrapa Instrumentação
Carlos Renato Menegatti	Escola de Engenharia de Lorena - USP
Cinthia C. da Costa	Embrapa Instrumentação
Cristiane S. Farinas	Embrapa Instrumentação
Daniel S. Corrêa	Embrapa Instrumentação
Daniel V. Magalhães	Escola de Engenharia de São Carlos - USP
Danilo M. dos Santos	Embrapa Instrumentação
Ednaldo J. Ferreira	Embrapa Instrumentação
Eduardo A. Speranza	Embrapa Informática
Elaine C. Paris	Embrapa Instrumentação
Fernanda L. Migliorini	Embrapa Instrumentação
Gelson T. S. T. da Silva	Embrapa Instrumentação
Henriette M. C. de Azeredo	Embrapa Agroindústria Tropical
Humberto M. Brandão	Embrapa Gado de Leite
José P. Molin	Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP
Juliana A. Torres	Embrapa Instrumentação
Juliana C. Soares	Embrapa Instrumentação
Kelcilene B. R. Teodoro	Embrapa Instrumentação
Ladislau M. Rabello	Embrapa Instrumentação
Lucimara A. Forato	Embrapa Instrumentação
Lúcio A. de C. Jorge	Embrapa Instrumentação
Luis H. Bassoi	Embrapa Instrumentação
Luiz A. Colnago	Embrapa Instrumentação
Marcela P. Bernardo	Embrapa Instrumentação
Marcelo Becker	Escola de Engenharia de São Carlos - USP
Marcos D. Ferreira	Embrapa Instrumentação
Maria A. Martins	Embrapa Instrumentação
Morsyleide de F. Rosa	Embrapa Agroindústria Tropical
Newton La Scala Jr.	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp
Paulino R. Villas-Boas	Embrapa Instrumentação
Paulo E. Cruvinel	Embrapa Instrumentação
Paulo S. de P. Herrmann Jr	Embrapa Instrumentação
Ricardo Bortoletto-Santos	Embrapa Instrumentação
Ricardo Y. Inamasu	Embrapa Instrumentação
Rodrigo Klaic	Embrapa Instrumentação
Ronaldo P. de Oliveira	Embrapa Solos
Rubens Bernardes Filho	Embrapa Instrumentação
Thiago T. Santos	Embrapa Informática
Victor Bertucci-Neto	Embrapa Instrumentação
Washington L. B. Melo	Embrapa Instrumentação
Wilson T. L. da Silva	Embrapa Instrumentação

## **Agradecimentos**

A comissão organizadora do Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária (Siagro 2019) agradece a todas pessoas que não mediram esforços para a viabilização do evento. Sem o trabalho de todos os envolvidos, do setor público e da iniciativa privada este evento não seria possível. Agradecemos o apoio das Chefias da Embrapa Instrumentação – organizadora do evento, as instituições participantes e o apoio financeiro da Capes, CNPq, FAPESP, John Deere, Monitora, NT@gro e OCB.

Registramos nosso agradecimento aos comitês de programa, comunicação, finanças, mobilização e infraestrutura, Business Day, ao comitê científico pela valorosa contribuição na avaliação dos resumos e à equipe responsável pela confecção e elaboração deste volume. Por fim, a comissão agradece a todos os autores que contribuíram com trabalhos relevantes para esta publicação e aos participantes do Siagro 2019.

*Os editores*





## **Apresentação**

A inovação está no DNA da Embrapa. Com essa gênese, a Embrapa, em parceria com as organizações estaduais de pesquisa agropecuária e as universidades, nas primeiras duas décadas de sua existência, venceu o enorme desafio de produzir conhecimentos e tecnologias de manejo dos campos tropicais de forma a garantir a segurança alimentar no Brasil. Nas duas décadas seguintes, o compromisso do Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária foi de transformar o país em grande exportador de alimentos no mundo em pleno período de globalização dos mercados. É impressionante verificar que o Brasil iniciou os anos 70 como importador de alimentos - até de arroz, feijão, leite e carne! - e hoje alimenta mais de 1,2 bilhão de pessoas, posicionando-se entre os maiores países produtores e exportadores de alimentos. Apesar de todo esse avanço, os desafios que se colocam hoje para o Brasil são ainda muito mais amplos e complexos. Entre eles, destaca-se o de contribuir com a segurança alimentar mundial em 2050 com quase metade do aumento do volume de produção, segundo estimativas da FAO. E esse aumento de produção deve vir com uso consciente de recursos naturais sem comprometer o ambiente, pois a preservação ambiental tem se tornado exigência básica para qualquer sistema produtivo. Somam-se a esse consenso global questões de segurança do alimento, saudabilidade, avanço dos índices de obesidade, a grande segmentação das preferências alimentares dos consumidores e o aumento da demanda por proteínas da classe média chinesa e do sudeste asiático que cresce vertiginosamente.

Perante a essa complexidade, a Instrumentação Agropecuária tem se consolidado como um tema altamente estratégico para prover as soluções que o gestor de uma propriedade rural precisa para obter o máximo de rendimento financeiro com o menor impacto ambiental. Neste sentido, o mote do Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária (Siagro) 2019 é abordar temas como Agricultura Digital, Agricultura de Precisão, Automação, Nanotecnologia, Biotecnologia para identificar demandas de mercado, discutir tendências científicas e tecnológicas, no momento em que as oportunidades da Agricultura 4.0 estão em destaque. O evento congrega cientistas, empresários, produtores rurais e investidores.

Nesta publicação científica, o Siagro 2019 apresenta 149 trabalhos de 32 instituições de pesquisa (universidades, centros de pesquisa nacionais e internacionais, públicos e privados), das cinco regiões do país.

Os artigos abordam o estado da arte dos temas Agricultura Digital; Agricultura de Precisão; Automação; Nanotecnologia e Novos Materiais; Bioeconomia; Pós-colheita e processamento de alimentos; Avaliação de impacto sócio-econômico-ambiental; Métodos e Técnicas de Caracterização de solos, plantas, alimentos, resíduos e materiais de interesse da agropecuária.

Desejamos boa leitura na trilha da ciência, inovação e mercado, rumo à agricultura 4.0.

*João de Mendonça Naime*  
*Chefe Geral da Embrapa Instrumentação*



## Prefácio

Referência em agricultura tropical, o Brasil conquistou esse reconhecimento pelo fato de não somente importar pacotes tecnológicos, mas, principalmente, desenvolver pesquisas e gerar inovações em um território-continente diverso em solo, clima e água, fatores fundamentais para alavancar a produção agropecuária sustentável. O País terá que avançar ainda mais nos próximos 30 anos, quando deverá responder por 40% do crescimento projetado pela FAO/ONU para a segurança alimentar do planeta.

Nessa rota de futuro a Agricultura Digital ou Agricultura 4.0 é fator primordial e diferencial para que possamos buscar o protagonismo como produtor de alimentos, fibras e energia. O investimento em Ciência, Tecnologia e Inovação (C&T&I) é imprescindível para desenvolver novas metodologias, tecnologias e serviços para o produtor rural incorporar às suas atividades e responder à demanda crescente sobre o agronegócio brasileiro.

Os principais avanços na Agricultura Digital estão associados à automação e conectividade no campo, Internet das coisas (IoT), uso de drones, novos sensores, “big data”, instrumentos e máquinas autônomas, entre outros. Contempla ainda a convergência de tecnologias tais como nanotecnologia, biotecnologia, tecnologia de informação e comunicação e as ciências cognitivas.

Essa é a agenda do Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária (SIAGRO 2019), um fórum voltado à ciência, inovação e mercado, estruturado em sete temas técnico-científicos: 1) Agricultura de Precisão; 2) Agricultura Digital e Automação; 3) Avaliação de Impactos Sócio-Econômico-Ambiental; 4) Bioeconomia; 5) Métodos e Técnicas de Caracterização de Solos, Plantas, Alimentos, Resíduos e Materiais de Interesse do Agro; 6) Nanotecnologia e Novos Materiais; e 7) Pós-colheita e Processamento de Alimentos.

Toda essa temática tem caracterizado a atuação e o protagonismo da Embrapa Instrumentação e de seus parceiros públicos e privados nos 35 anos do Centro de Pesquisa, localizado em São Carlos (SP). Como consequência, a proposta do SIAGRO 2019 busca enfatizar os aspectos de ciência, de inovação e de empreendedorismo (mercado) em um contexto da Agricultura Digital.

Além da apresentação de trabalhos científicos, com mesas redondas, sessões de pôsteres e apresentações orais, o simpósio conta com o “Business Day”, que reúne atores dos setores público e privado, organizações não-governamentais e investidores para discutir e estabelecer parcerias público-privadas para o desenvolvimento de novas tecnologias, produtos e processos.

Os números desta edição alcançaram 149 resumos, avaliados por 45 revisores e submetidos por representantes de 32 instituições das cinco regiões do Brasil, entre as quais, 13 Centros de Pesquisa da Embrapa, universidades federais e estaduais, e instituições de pesquisa de 17 municípios brasileiros e de uma universidade da França (Toulon).

Essa capilaridade reflete a importância estratégica da instrumentação na agricultura nacional e internacional. Nosso desejo é que o conhecimento aqui registrado nos resumos contribua para o avanço científico-tecnológico da Agricultura 4.0 no País e possa motivar alunos, pesquisadores e profissionais interessados neste tema estratégico para novos saltos de produção do setor agropecuário brasileiro.

Boa leitura!

*Os Editores*



## Sumário

### CAPÍTULO 1 – Agricultura de Precisão

ÍNDICE DE ÁREA FOLIAR E PRODUTIVIDADE DO MILHO FERTIRRIGADO COM EFLUENTE DE ESGOTO TRATADO	23
<i>Abreu, P. A. S., Costa, B. R. S., Oldoni, H., Silva, W. T. L., Basso, L. H.</i>	
OTIMIZAÇÃO DA PORCENTAGEM DE LIGANTE PARA ANÁLISE DE METAIS POR DP-LIBS DAS AMOSTRAS DE SOLO E SEDIMENTO DO PANTANAL MATO-GROSSENSE	28
<i>Araujo, R. R., Milori, D. M. B. P.</i>	
TRANSFORMANDO DESPERDÍCIO DE ALIMENTOS EM INDULGÊNCIA COM O USO DE NOVAS TECNOLOGIAS	33
<i>Bergo, P. L. S., Caetano, M., Pessoa, J. D. C., Cruvinel, P. E.</i>	
MELHORIA DA FERTILIDADE DO SOLO E OTIMIZAÇÃO DO USO DE INSUMOS EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA-FLORESTA COM FERRAMENTAS DE AGRICULTURA DE PRECISÃO	38
<i>Bernardi, A. C. C.; Laurenti, N.; Bettiol, G. M.; Oliveira, P. P. A.; Alves, T. C.; Pedrosa, A. F.; Esteves, S. N.; Pezzopane, J. R. M.</i>	
MÉTODO BASEADO EM GRAFOS PARA SEGMENTAÇÃO DE SEMENTES OLEAGINOSAS EM IMAGENS TOMOGRÁFICAS DE ALTA RESOLUÇÃO	43
<i>Brito, A. R., Alves, G. M., Cruvinel, P. E.</i>	
METODOLOGIA PARA ESTIMAR ALTURA DE ÁRVORES COM BASE EM IMAGENS AÉREAS CAPTURADAS POR DRONE	48
<i>Bueno, J. O. A., Bourscheidt, V., Pezzopane, J. R. M., Bernardi, A. C. C., Crestana, S.</i>	
DETERMINAÇÃO DE CARBONO EM SOLOS SOB SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUÇÃO ATRAVÉS DA TÉCNICA FOTÔNICA LASER INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY - LIBS	53
<i>Carvalho, M. A. R., Tadini, A. M., Silva, K. S. G., Xavier, A. A. P., Milori, D. M. B. P., Bernardi, A. C. C., Martin-Neto, L.</i>	
DESEMPENHO DE MÉTODOS PARA ESTIMATIVA DO ÍNDICE DE VEGETAÇÃO POR DIFERENÇA NORMALIZADA EM VIDEIRAS MEDIANTE SENSORIAMENTO PROXIMAL	58
<i>Costa, B. R. S., Oldoni, H., Silva, T. M. M., Basso, L. H.</i>	
STAKEHOLDERS COMO CENTRO DA ESTRATÉGIA DO PROJETO PECUÁRIA DO FUTURO: UM CAMINHO PARA A INOVAÇÃO	63
<i>Fragalle, C. V. P., Santos, P. M., Telles, M. A., Pezzopane, J. R. M., Santos, T. T., Nogueira, S. F., Silva, G. B. S., Koenigkan, L. V., Maio, A. M. D. De</i>	
INFLUÊNCIA DA TEXTURA DO SOLO NO ÍNDICE DE HUMIFICAÇÃO OBTIDO POR FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER EM AMOSTRAS DE SOLO	68
<i>Freitas, V. S., Vaz, C. M. P., Milori, D. M. P. B.</i>	
SISTEMA LIBS EMBARCADO PARA APLICAÇÕES AGRONÔMICAS. IMPLEMENTAÇÃO DO SISTEMA DE DISPARO DOS PULSOS LASER	73
<i>Larenas, M. C., Magalhães, D. V., Milori, D. M. P.</i>	
TERMOGRAFIA DE SUPERFÍCIE POR SENSORIAMENTO REMOTO EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA-FLORESTA	78
<i>Laurenti, N.; Bueno, O. A., Pezzopane, J. R. M.; Garcia, A. R.; Bernardi, A. C. C.</i>	
DESEMPENHO DE SENSORES ELETRÔNICOS NA MEDIÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-HÍDRICOS DO SOLO E VARIÁVEIS FÍSICO-CLIMÁTICAS	83
<i>Leite, E. A., Crudo, L. A., Meurer, I., Avancini, T. G. P., Carvalho, G. C., Miranda, J. H.</i>	
COMPARAÇÃO DE TEMPERATURAS DE SUPERFÍCIE DE SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA, PECUÁRIA E FLORESTA (ILPF), PASTAGEM E MATA NATIVA POR MEIO DE IMAGENS	88
<i>Lima, C. B. S., Laurenti, N.; Nicodemo, M. L. F.; Pezzopane, J. R. M.; Garcia, A. R.; Bernardi, A. C. C.</i>	
CORRELAÇÃO ENTRE ÁREA FOLIAR E ÍNDICE RELATIVO DE CLOROFILA DO PEPINEIRO FERTIRRIGADO COM EFLUENTE TRATADO DE LATICÍNIO	93

<i>Lima, A. C. M., Magalhães, L. P., Trevisan, L. R., Bricchi, L., Gomes, T. M., Rossi, F.</i>	
ÍNDICE DE VEGETAÇÃO AJUSTADO AO SOLO-SAVI ADAPTADO: PROPOSTA PARA CARACTERIZAR COBERTURA VEGETAL DO SOLO	97
<i>Magalhães, L. P., Trevisan, L. R., Gomes, T. N., Rossi, F.</i>	
UTILIZAÇÃO DE SENSORES ÓPTICOS ATIVOS NA IDENTIFICAÇÃO DA VARIABILIDADE ENTRE OS DOIS LADOS DA PLANTA DE CAFÉ	102
<i>Meirelles, L. F., Martello, M., Molin, P.G., Molin, J. P.</i>	
ÍNDICE RELATIVO DE CLOROFILA NO ARROZ ESPECIAL IRRIGADO COM EFLUENTE TRATADO DE LATICÍNIO	107
<i>Menegassi, L. C., Gomes, T. M., Rossi, F., Batista, K R. N., Valverde, C.</i>	
ÍNDICES DE REFLECTÂNCIA EM PASTAGENS SOB SISTEMAS ILP E ILPF	112
<i>Menegazzo, L. P.; Laurenti, N.; Lima, C. B. S.; Pezzopane, J. R. M.; Bernardi, A. C. C.</i>	
MODELO PARA ESTRUTURAÇÃO DE BASE DE DADOS DIGITAIS PARA APOIO A TOMADA DE DECISÃO EM RISCO AGRÍCOLA	117
<i>Neves, R. A., Cruvinel, P. E.</i>	
VARIABILIDADE ESPACIAL DO CRESCIMENTO DO EUCALIPTO E DA TEMPERATURA DE SUPERFÍCIE DE UM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA-FLORESTA	122
<i>Nogueira, G. R.; Ruiz, I. H.; Laurenti, N.; Cordeiro, L. A. M.; Pezzopane, J. R. M.; Garcia, A. R.; Alves, T. C.; Bernardi, A. C. C.</i>	
PROGRAMA DE APLICAÇÃO TECNOLÓGICA PARA AGRICULTURA - CIMOTECH	126
<i>Panini, R. L.</i>	
ORGANIZAÇÃO DE UMA ESTRUTURA DE PROCESSAMENTO PARALELO BASEADO EM APACHE SPARK PARA GERENCIAMENTO DE RISCO AGRÍCOLA	131
<i>Pereira, M. F. L., Alves, G. M., Beraldo, J. M. G., Cruvinel, P. E.</i>	
ERRO TRANSVERSAL DE PERCURSO EM ENSAIO CINEMÁTICO DE RECEPTORES GNSS	136
<i>Pereira, G. S., Bazame, H. C., Magalhães, L. P., Westphalen, M. F., Molin, J. P.</i>	
USO DA PLATAFORMA APSIM PARA DEFINIÇÃO DE ÉPOCAS DE ADUBAÇÃO DO CAPIM PIATÁ	141
<i>Pezzopane, J. R. M., Santos, P. M., Lopes, S. O. R., Bosi, C.</i>	
COMPLEXO MULTI SENSOR DE MEDIDA DE DOSSEL DE PLANTA	146
<i>Rabello, L.M., Inamasu, R.Y., Speranza, E. A.</i>	
ÍNDICES DE VEGETAÇÃO (SENTINEL-2) DA CANA-DE-AÇÚCAR RELACIONADOS COM A CONDUTIVIDADE ELÉTRICA APARENTE DE SOLO.	151
<i>Rodrigues, C. A. G., Grego, C. R., Sanches, G. M., Speranza, E. A., Ronquim, C. C., Silveira, H. L. F., Luchiari Jr., A.</i>	
USO DE SMARTPHONES, APLICATIVOS E CORREÇÃO VIA INTERNET EM TEMPO REAL	156
<i>Rosalen, D., Silva, G., Covre, R., Morais, L.</i>	
ESTIMATIVA DE TEORES FOLIARES DE CLOROFILA EM VINHEDO POR MEIO DE CLOROFILÔMETRO PORTÁTIL	161
<i>Silva, T. M. M., Costa, B. R. S., Oldoni, H., Salviano, A. M., Bassoi, L. H.</i>	
ESTIMATIVA DOS TEORES FOLIARES DE NITROGÊNIO EM VINHEDO POR MEIO DE CLOROFILÔMETRO PORTÁTIL	166
<i>Silva, T. M. M., Costa, B. R. S., Oldoni, H., Salviano, A. M., Bassoi, L. H.</i>	
CORRELAÇÕES DA PRODUTIVIDADE DO ALGODOEIRO COM ÍNDICES DE VEGETAÇÃO OBTIDOS POR SÉRIES TEMPORAIS DE IMAGENS DE SATÉLITE	170
<i>Silva, F. S., Vaz, C. M. P., Speranza, E., Galbieri, R., Esquerdo, J. C. D. M., Villela, J. M., Crestana, S.</i>	
DELINEAMENTO DE ZONAS DE MANEJO EM CANA-DE-AÇÚCAR A PARTIR DE ATRIBUTOS DO SOLO E DA CULTURA E IMAGENS GEORREFERENCIADAS	175
<i>Speranza, E. A., Grego, C. R., Jorge, L.A.C., Rodrigues, C.A.G., Luchiari Jr., A., Ronquim, C.C., Sanches, G.M.</i>	
PLATAFORMA PARA COMPARTILHAMENTO DE DADOS DE PESQUISA EM AGRICULTURA DE PRECISÃO	180
<i>Speranza, E. A., Brandini, A.R.S., Inamasu, R. Y., Jorge, L.A.C.</i>	

PROJETO E CONSTRUÇÃO DE UM PROTÓTIPO DE LIBS DE BANCADA COMPACTO PARA ANÁLISES AGROAMBIENTAIS <i>Stenio, K., Villas-Boas, P. R., Milori, D. M. B. P.</i>	185
MÉTODO COMPUTACIONAL PARA OBTENÇÃO DE ÁREA FOLIAR A PARTIR DAS INTENSIDADES DE RGB EM IMAGENS DIGITAIS <i>Trevisan, L. R., Brichi, L., Magalhães, L. P., Lima, A. C. M., Gomes, T. M., Rossi, F.</i>	190
ABORDAGEM MULTIFRACTAL 3D E MICROTOMOGRÁFIA COMPUTADORIZADA DE RAIOS-X NA AVALIAÇÃO DE UM SOLO SUBMETIDO A DIFERENTES TIPOS DE MANEJO <i>Tseng, C. L., Posadas, A. N. D., Vaz, C. M. P., Cooper, M., Crestana, S.</i>	195
ZONAS DE MANEJO A PARTIR DE ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO DE PLASMA INDUZIDO POR LASER <i>Valois, P. H., Franchini, J. C., Debiasi, H., Vaz, C. M. P., Correa, F. B., Villas-Boas, P.</i>	200
ESTUDO E MONITORAMENTO DA PERDA DE SOLO EM CONDIÇÕES CONTROLADAS, UTILIZANDO TERRAS RARAS COMO TRAÇADOR <i>Watanabe, A. M., Vivaldini, A. R. S., Villela, J. M., Rosalem, L. M. P., Braz, C. E. M., Nogueira, A. R. A., Wendland, E. C., Crestana, S.</i>	205
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA A QUANTIFICAÇÃO DE POTÁSSIO EM AMOSTRAS DE SOLO SOB APLICAÇÃO DE SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DE CANA-DE-AÇÚCAR UTILIZANDO LIBS <i>Xavier, A. A. P., Corá, J. E., Milori, D. M. B. P.</i>	210
<b>CAPÍTULO 2 – Agricultura Digital e Automação</b>	
PROCESSO DE BATELADA AUTOMATIZADO PARA DESPELICULAÇÃO DE AMÊNDOAS FERMENTADAS DE CUPUAÇU <i>Bertucci-Neto, V., Pessoa, J. D. C., Souza, J. M. L.</i>	217
PROJETO, CONSTRUÇÃO E TESTES DE GERMINADORA AUTOMATIZADA DE BAIXO CUSTO <i>Eboli, P., Lache, I.</i>	222
INSTRUMENTAÇÃO E AUTOMAÇÃO DE REATORES PARA DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS DE FERMENTAÇÃO SÓLIDA PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS <i>Fonseca, R. F., Farinas, C. S., Bertucci-Neto, V.</i>	226
CONFIGURAÇÃO DE REDE INFORMATIZADA PARA MONITORAMENTO DO BEM-ESTAR E COMPORTAMENTO DE BOVINOS DE CORTE A PASTO <i>Garcia, A.R., Bernardi, A.C.C., Pezzopane, J.R.M., Guimarães, E.S., Pedroso, A.F., Romanello, N., Barreto, A.N.</i>	231
PROJETO E TESTES PRELIMINARES DE PROTÓTIPO PARA MONITORAMENTO DE ENCOSTA EM ATERRO SANITÁRIO <i>Meirelles, L., Gadelha, C., Oliveira, M., Guimarães, T., Lache, I., Cataldi, M., Mondini, J.</i>	236
UTILIZAÇÃO DO CIRCUITO INTEGRADO HX711 EM SISTEMAS DE AQUISIÇÃO DE DADOS PARA LISIMETRIA DE PESAGEM <i>Reis, J. A., Vellame, L. M., Amaral, A. M., Marinho, L. B.</i>	241
PRIMEIROS PASSOS DE AUTOMAÇÃO DE SISTEMA DE PULVERIZAÇÃO DE TRATOR PARA AGRICULTURA FAMILIAR <i>Villacorta, Y. L., Lache, I., Castro, F.</i>	246
<b>CAPÍTULO 3 – Avaliação de Impactos Socioeconômicos e Ambientais</b>	
ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA EM SOLOS FERTILIZADOS COM UREIA <i>Ferraz Júnior, R. S.; Rabelo, M. D.; Souza, G. B.; Oliveira, P. P. A.; Jordão, C. C.; Bernardi, A. C. C.</i>	253
VIABILIDADE TÉCNICA DA REMOÇÃO DE INIBIDORES DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR POR PROCESSO DE LAVAGEM EM BIORREFINARIAS <i>Pinto, A. S. S., Ribeiro, M. P. A., Giordano, R. C., Farinas, C. S.</i>	258

MITIGAÇÃO DO IMPACTO NEGATIVO DE INIBIDORES NA PRODUÇÃO DE ETANOL CELULÓSICO EM BIORREFINARIAS POR PROCESSO DE LAVAGEM CONCOMITANTE COM A ADIÇÃO DE PROTEÍNA DE SOJA	263
<i>Pinto, A. S., Brondi, M. G., Freitas, J. V., Ribeiro, M. P., Giordano, R. C., Farinas, C. S.</i>	
APRESENTAÇÃO DO MODELO WANULCAS APLICADO EM UM SAF DE NATIVAS CONSORCIADO COM CANA-DE-AÇÚCAR NA EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE NA CIDADE DE SÃO CARLOS.	267
<i>Teodoro, C. C., Guimarães, E. S., Pezzopane, J. R. M., Nicodemo, M. L. F., Crestana, S.</i>	
<b>CAPÍTULO 4 – Bioeconomia</b>	
DESENVOLVIMENTO DE ÁREA ALAGADA CONSTRUÍDA (JARDIM FILTRANTE) PARA TRATAMENTO DE EFLUENTE DA PRODUÇÃO AQUÍCOLA	275
<i>Brandão, M. F. S., Silva, W. T. L.</i>	
USO DA PROTEÍNA DE SOJA NA SACARIFICAÇÃO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR NO CONTEXTO DE UMA BIORREFINÁRIA INTEGRADA: ANÁLISE TECNOCOMERCIAL DO PROCESSO	280
<i>Brondi, M. G., Elias, A. M., Furlan, F. F., Giordano, R. C., C. Farinas, S.</i>	
MUDANÇA DA MORFOLOGIA DE <i>A. NIGER</i> : APLICAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ENZIMAS CELULOLÍTICAS	284
<i>Buffo, M. M., Ferreira, A.L.Z., Almeida, R. M. R. G., Badino, A. C., Farinas, C. S.</i>	
CENÁRIO ATUAL DOS NOVOS MÉTODOS DE FENOTIPAGEM DE PLANTAS E URGÊNCIA NAS AÇÕES DE IMERSÃO DO BRASIL NA ERA DA BIOECONOMIA.	289
<i>Herrmann, P. S. P., Crestana, S., Ribeiro Junior, W. Q., Sousa, C. A. F., Santos, T. T, Lanna, A. C.</i>	
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO EFLUENTE DE ESGOTO TRATADO EM FOSSAS SÉPTICAS BIODIGESTORAS INOCULADAS COM SUBSTITUTOS AO ESTERCO BOVINO FRESCO	295
<i>Lara, P. A., Marmo, C. R., Silva, W. T. L.</i>	
CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FIBRAS DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR QUIMICAMENTE MODIFICADAS	300
<i>Lazarini, R. G., Marconcini, J. M.</i>	
<b>CAPÍTULO 5 – Métodos e Técnicas de Caracterização de Solos, Plantas, Alimentos, Resíduos e Materiais de Interesse do Agronegócio</b>	
TEOR FOLIAR DE NITROGÊNIO EM MILHO FERTIRRIGADO COM EFLUENTE DE ESGOTO TRATADO	307
<i>Abreu, P. A. S., Costa, B. R. S., Oldoni, H., Silva, W. T. L, Bassoi, L. H.</i>	
GLICEROL RESÍDUAL DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL UTILIZADO NA CONVERSÃO DE BIOGÁS POR PROCESSO BIOLÓGICO ANAERÓBIO	312
<i>Adames, L. V., Pires, L. O., Maintinguer, S. I.</i>	
ESPECTROSCOPIA DE REFLECTÂNCIA DIFUSA E SUSCETIBILIDADE MAGNÉTICA NA PREDIÇÃO E MAPEAMENTO DOS ESTOQUES DE C E N DO SOLO	317
<i>Bahia, A. S. R. S., Lima, A. R. C., Melo, T. P., Ongaratto, F., Reis, R. A., Marques Jr, J.</i>	
DESEMPENHO DO SISTEMA SOILGRIDS NA ESTIMATIVA DO CARBONO ORGÂNICO DO SOLO EM DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO	323
<i>Barbosa, A. M. S., Moraes, J. R. S. C., Cidin, A. C. M., Martorano, L. G., Crestana, S.</i>	
PREDIÇÃO DE FÓSFORO ADSORVIDO UTILIZANDO A SUSCETIBILIDADE MAGNÉTICA EM SOLOS SOB CULTIVO DE CANA-DE-AÇÚCAR	328
<i>Batista, K. V., Silva, L. G., Moreno, A. F., Santos, V. B., Santos, G. A. A., Pereira, G. T.</i>	
MEDIDA DE COMPRIMENTO DE SARCÔMERO DE CARNE BOVINA POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA.	333
<i>Bernardes Filho, R., Seabra, V., Forato, L. A., Lasso, P. O., Okumura, F., Nassu, R. T.</i>	
QUANTIFICAÇÃO DE CÁLCIO, MAGNÉSIO E FERRO EM FOLHAS DE SOJA ATRAVÉS DA TÉCNICA LIBS UTILIZANDO O ONE-POINT CALIBRATION	336
<i>Borduchi, L. C. L., Milori, D.M.B.P, Villas-Boas, P. R.</i>	



ALTERAÇÕES QUÍMICAS DE ÁCIDOS HÚMICOS PROMOVIDAS POR SISTEMAS DE MANEJO EM SOLOS SUBTROPICAIS	341
<i>Briedis, C., Moraes Sá, J. C., Milori, D. M. B. P.</i>	
MODELO DE PREVISÃO DA SAFRA INTEGRADA UTILIZANDO ASSINATURA MAGNÉTICA DO SOLO	346
<i>Chitlango, A. C., Silva, L. F. V., Silva, J. D. F., Siqueira, D. S., Silva, L. S., Gomes, R. P., Marques Jr. J.</i>	
AVALIAÇÃO DE ATRIBUTOS DO SOLO PARA DESENVOLVIMENTO DE FUNÇÃO DE PEDOTRANSFERÊNCIA PARA ESTIMATIVA DE TEORES DE CARBONO EM SOLOS BRASILEIROS: ANÁLISE EXPLORATÓRIA	351
<i>Cidin, C. M., Lopes-Assad, M. L. R. C., Crestana, S.</i>	
CARACTERIZAÇÃO GRANULOMETRICA EM AREAS DE NEOSSOLO QUARTZARENICO EM ECOSISTEMA NATURAL, SISTEMA AGROFLORESTAL E PASTAGEM	356
<i>Cunha, C. P., Crestana, S.</i>	
IDENTIFICAÇÃO DE MILHO TRANSGÊNICO POR ANÁLISE DISCRIMINANTE LINEAR E ESPECTROSCOPIA RAMAN	361
<i>Dib, S. R., Silva, T. V., Gomes Neto, J. A., Guimarães, L. J., Ferreira, E. J., Ferreira, E. C.</i>	
ANÁLISE DO IMPACTO DA AQUICULTURA NA QUANTIDADE DE CARBONO E NA HUMIFICAÇÃO DO SOLO AO REDOR DOS TANQUES DE CRIAÇÃO	366
<i>Gualdani, B. A., Xavier, A. A. P., Milori, D. M. B. P.</i>	
INVESTIGAÇÕES INICIAIS DO "E-NOSE" NO ESTRESSE HÍDRICO DA SOJA, RESULTADOS COMPARATIVO COM MEDIDAS DE CO <sub>2</sub> E UMIDADE RELATIVA (%).	370
<i>Herrmann, P. S. de P., Torre Neto, A.</i>	
BIOFERTILIZANTES A PARTIR DO USO DE FONTES DE NUTRIENTES DE BAIXA REATIVIDADE E MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES	375
<i>Klaic, R., Fávoro, C. P., Lodi, L. A., Ribeiro, C., Farinas, C. S.</i>	
CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE MAÇA PARA PRODUÇÃO DE FILMES	380
<i>Manrich, A., Silva, V. M., Mattoso, L. H. C., Martins, M. A.</i>	
APLICAÇÃO DO EQUIPAMENTO – SONDALEITE – PARA O MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO DO LEITE LONGA VIDA (UHT) E O TEOR DE GORDURAS.	385
<i>Melo, W. L. B., Mitsuyuki, M. C.</i>	
DESENVOLVIMENTO DA INSTRUMENTAÇÃO DE UMA SONDA ESPECTROSCÓPICA POR EMISSÃO DISCRETA PARA ANÁLISE DA QUALIDADE DO LEITE - SONDALEITE.	390
<i>Melo, W. L. B.</i>	
APLICAÇÃO DA TÉCNICA LIBS PARA DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EM AMOSTRAS DE PERCOLADO LÍQUIDO	395
<i>Menegatti, C.R., Marangoni, B.S., Nicolodelli, G., Filho, H. J. I., Xavier, A. A. P., Villas-Boas, P. R., Milori, D. M. B. P.</i>	
ANÁLISE DE CARNE E GORDURA BOVINA USANDO TÉCNICAS BIDIMENSIONAIS DE RMN NO DOMÍNIO DO TEMPO	399
<i>Monaretto, T., Colnago, L. A.</i>	
QUANTIFICAÇÃO DO CARBONO ORGÂNICO DO SOLO E DA TEXTURA POR MEIO DA ANÁLISE MULTIVARIADA DE IMAGENS	404
<i>Morais, P. A. O., Souza, D. M., Carvalho, M. T., Madari, B. E., Oliveira, A. E.</i>	
OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS QUE INFLUENCIAM AS ANÁLISES EM LIBS E DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE P EM SEDIMENTOS DOS RIOS TIETÊ E PIRACICABA	409
<i>Morais, C. P., Mitsuyuki, M. C., Silva, K. S., Nicolodelli, G., Mounier, S., Milori, D. M. B. P.</i>	
COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE ANÁLISE PREDITIVA DE SÉRIES TEMPORAIS DE DADOS DE UMIDADE DO SOLO	414
<i>Nascimento, F. A. L., Costa, F. L. S., Sánchez, J., Veimrober Júnior, L. A. A., Silva, A. J. P.</i>	
POSICIONAMENTO ÓTIMO DE SENSORES PARA MANEJO DA IRRIGAÇÃO LOCALIZADA NO MARACUJAZEIRO	418
<i>Nascimento, F. A. L., Silva, A. J. P., Freitas, F. T. O., Santos, U. O., Veimrober Junior, L. A. A.</i>	
PREDIÇÃO DE ATRIBUTOS DE QUALIDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR DE FORMA INDIRETA UTILIZANDO ESPECTRÔMETRO PORTÁTIL	422

<i>Nuncio-Junior, R. A., Corrêdo, L. P., Molin, P.G., Molin, J. P.</i>	
INVESTIGAÇÃO METABOLÔMICA POR RMN DE POTENCIAIS AGROQUÍMICOS NATURAIS DE <i>SCHIEKIA ORINOCENSIS</i> , PRODUZIDOS SOB STRESS BIÓTICO E ABIÓTICO	427
<i>Ocampos, F. M. M., Colnago, L. A.</i>	
ABORDAGEM MULTIFRACTAL EM 3D PARA A CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA POROSO DE UM SOLO SUBMETIDO A DIFERENTES MANEJOS E CICLOS DE UMEDECIMENTO E SECAMENTO	432
<i>Oliveira, J. A. T., Pires, L. F., Cássaro, F. A. M., Posadas, A. N. D.</i>	
IDENTIFICAÇÃO DE PLANTA COM POTENCIAL PARA ESTUDO MEDICINAL: <i>PLATYCODON GRANDIFLORUM</i> (JACQ.) A. DC., FLOR BALÃO	436
<i>Pereira, N.W.V., Crestana, S.</i>	
MODELO DE VISÃO COMPUTACIONAL PARA MENSURAR O FORMATO DE FRUTO DE MELÃO AMARELO	441
<i>Pinheiro Neto, L. G., Calixto, R. R., Aragão, M. F., T. S. Cavalcante E. de O. Silva</i>	
INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE ALGINATO DE SÓDIO E DO TEMPO DE RETICULAÇÃO EM MICROCÁPSULAS DE SEMENTE SINTÉTICA DE <i>MICONIA LIGUSTROIDES</i> (DC)	446
<i>Resende, A. A., Reis, M. V., Tavares, K. M., Lorenço, M. S., Oliveira, J. E., Marconcini, J. M.</i>	
AVALIAÇÃO DE UM PIRANÔMETRO DE BAIXO CUSTO EM CONDIÇÕES DE CAMPO	451
<i>Sánchez-Benítez, J., Amaral, A. M., Vale, T. S. S., Santos, M. A. C. M., Vellame, L.M., Santos, I. L. N.</i>	
CONVERSOR A/D HX711 E ARDUINO NA MEDIÇÃO DE TERMOPARES: APLICAÇÃO NO MÉTODO DA ESTIMATIVA DE FLUXO DE SEIVA POR PULSO DE CALOR	456
<i>Santos, B. D., Sánchez, J., Vellame, L. M., Oliveira, C. S.</i>	
BALANÇO DE ÁGUA NO SOLO: SENSORIAMENTO <i>versus</i> MODELAGEM MATEMÁTICA	461
<i>Santos, I. L. N., Benítez, J. S., Dantas, E. S., Santana Junior, J. J., Modesto, F. J. N., Silva, A. J. P.</i>	
MONITORAMENTO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DA BORRACHA NATURAL DOS CLONES DE SERINGUEIRA RRIM 710, RRIM 728, RRIM 729, E RRIM 806 DE JANEIRO A JUNHO DE 2019	466
<i>Savarez, T.; Silva, L. O. G.; Silva, M. J.; Scaloppi Jr, E. J.; Gonçalves, P. S., Martins, M. A.</i>	
TRATAMENTO BIOLÓGICO ANAERÓBIO DE ÁGUA RESIDUÁRIA CÍTRICOLA PARA OBTENÇÃO DE BIOHIDROGÊNIO E BIOETANOL	471
<i>Silva, D. C., Pires, L. O., Maintinguer, S. I.</i>	
ANÁLISE DE Ca EM SEDIMENTOS DO RIO PIRACICABA POR LIBS	476
<i>Silva, C. F., Morais, C. P., Silva, K. S. G., Milori, D. M. B. P.</i>	
CARACTERIZAÇÃO ELEMENTAR DE SOLOS DE BASALTO E ARENITO POR ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X	481
<i>Silva, J. D. F., Costa, M. M. R., Silva, L. F. V., Fernandes, K. L., Júnior, J. M.</i>	
CARACTERIZAÇÃO DE CLASSES DE SOLO DO PLANALTO OCIDENTAL PAULISTA POR ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X	485
<i>Silva, L. F. V., Costa, M. M. R., Silva, J. D. F., Fernandes, K. L., Júnior, J. M.</i>	
SIMULAÇÃO DE PRÁTICAS CONSERVACIONISTAS EM ÁREAS DE PRODUÇÃO AGRÍCOLA PARA CONTROLE DA POLUIÇÃO DA ÁGUA: ESTUDO DE CASO DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIBEIRÃO RODEADOR/DF	488
<i>Silva, P.R., Silva, F.H.J., Nunes, G., Minoti, R.T.</i>	
EMPREGO DE TOMÓGRAFO PORTÁTIL DE RAIOS GAMA PARA AVALIAÇÃO DO AVANÇO DA FRENTE DE MOLHAMENTO	493
<i>Sousa, P. F., Naimé, J. M., Crestana, S., Cavalcante, A. L. B.</i>	
CONSTRUÇÃO E CALIBRAÇÃO DE SENSORES ELETRÔNICOS DE BAIXO CUSTO, PARA O MONITORAMENTO DE UMIDADE DO SOLO.	498
<i>Souza, G. C., Souza, J. S., Vellame, L. M., Nascimento, F.A.L., Silva, N.D., Santos, M.A.C.M.</i>	
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA MATÉRIA ORGÂNICA DOS SOLOS EXTRAÍDOS DE TRÊS VARIAÇÕES DE SISTEMAS INTEGRADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO	503
<i>Tadini, A. M., Xavier, A. A. P., Carvalho, M. A. R., Martin-Neto, L., Milori, D. M.B.P.; Bernardi, A. C. C.</i>	

CARACTERIZAÇÃO DIRETA DA MATÉRIA ORGÂNICA EM SOLOS E SEDIMENTOS POR MICROSCOPIA CONFOCAL E IMAGEM DE TEMPO DE VIDA <i>Tadini, A., Morais, C.P., Bernardi, A. C. C., Falvo, M., Bruno, O. M., Mounier, S., Martin Neto, L., Milori, D.M.B.P., Guimarães, F.E.G.</i>	508
DESEMPENHO DE SENSORES IGstat DE TENSÃO CRÍTICA DA ÁGUA NO SOLO, COM DIFERENTES TAMANHOS DE MICROESFERAS DE VIDRO <i>Vaz, C. M. P., Dalkaine, C., Porto, L. F., Bassoi, L. H., Torre-Neto, A.</i>	513
<b>CAPÍTULO 6 – Nanotecnologia e Novos Materiais no Agronegócio</b>	
NANOFIBRAS POLIMÉRICAS MODIFICADAS COM ÓXIDO DE GRAFENO APLICADAS NA REMOÇÃO DE CORANTE EM SOLUÇÃO AQUOSA <i>Alvarenga, A. D., Migliorini, F. L., Teodoro, K. B.R., Facure, M. H. M., Correa, D. S.</i>	521
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SOLUÇÕES DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO <i>Azerêdo, M. S., Marconcini, J. M.</i>	526
FOSFINATOS NANOESTRUTURADOS DE BAIXA DIMENSIONALIDADE: CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DE POTENCIAIS SENSORES DE GASES DO EFEITO ESTUFA E DE ÍONS EM SOLUÇÃO <i>Bim, L. F. B., Felix, A. A., Godoi, D. R. M., Colnago, L. A., Cebim, M. A.</i>	530
PRODUÇÃO DE NANOCELULOSE INTEGRADA A OBTENÇÃO DE ETANOL 2G A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR <i>Bondancia, T.J., Aguiar, J., Mattoso, L.H.C., Marconcini, J.M., Farinas, C.S.</i>	536
ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DAS FIBRAS DE CRISOTILA A PARTIR DO TRATAMENTO COM ÁCIDO OXÁLICO <i>Borges, R., Klaic, R., Calegari, R. P., Ribeiro, C., Farinas, C. S.</i>	540
FOLHAS DE CELULOSE DE CURAUA RECOBERTAS COM MICRO E NANOCERA DE CARNAÚBA <i>Campos, A., Claro, P. C., Luchesi, B. R., Miranda, M., Souza, F. V.D., Ferreira, M. D., Marconcini, J. M.</i>	545
MICRO/NANOFIBRAS DE BORRACHA NATURAL PRODUZIDAS POR ELETROFIAÇÃO CONTENDO ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO <i>Chagas, P. A. M., Facure, M. H. M., Correa, D. S.</i>	550
DESENVOLVIMENTO DE SENSORES HÍBRIDOS COMPOSTOS POR DIÓXIDO DE TITÂNIO E POLÍMERO CONDUTOR COM POTENCIAL APLICAÇÃO NA ANÁLISE DE VOLÁTEIS <i>Conti, P. P., Andre, R. S., Mercante, L. A., Correa, D. S.</i>	555
ESTUDO DO CRESCIMENTO <i>IN SITU</i> DA POLIANILINA EM DIFERENTES CONDIÇÕES E A RESPOSTA DE FOTOCORRENTE <i>Correa, A. A., Araújo, M. A., Mascaro, L. H., Mattoso, L. H. C., Marconcini, J. M.</i>	560
MEMBRANAS FIBROSAS ASSIMÉTRICAS PRODUZIDAS POR FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO UTILIZANDO BORRACHA NATURAL, POLI(ÁCIDO LÁTICO) E NANOPARTÍCULAS DE ZNO <i>Costa, V. P. V., Santos, D. M., Andre, R. S., Corrêa, D. S.</i>	565
MELHORIA NAS PROPRIEDADES DA FITASE APÓS SUA IMOBILIZAÇÃO EM HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÃO EM RAÇÃO ANIMAL <i>Coutinho, T. C., Tardioli, P. W., Farinas, C. S.</i>	570
CARACTERIZAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS DE CELULOSE VEGETAL E CELULOSE MICROBIANA <i>Cruz, T. M., Matos, L. C., Silva, R. C. S., Silva, M. R. B. S., Mendes, L. M., Tonoli, G. H. D.</i>	575
SÍNTESE E PROPRIEDADES ÓTICAS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO PRODUZIDAS POR CO-PRECIPITAÇÃO E HIDROTHERMAL <i>Dantas, A. P. S., Vanderlei, R. M., Marconcini, J. M., Paris, E. C.</i>	579
DETECÇÃO DE ANTIBIÓTICOS UTILIZANDO LÍNGUA ELETRÔNICA À BASE DE ÓXIDO DE GRAFENO E DISSULFETO DE MOLIBDÊNIO <i>Facure, M. H. M., Schneider, R., Andre, R. S., Santos, D. M., Corrêa, D. S.</i>	583
FOSFATOS NANOMÉTRICOS DISPERSOS EM MATRIZ DE UREIA E AMIDO NA	587

FERTILIZAÇÃO DO <i>PANICUM MAXIMUM</i> CV. BRS ZURI <i>Gestal, H. P., Giroto, A. S., Guimarães, G. G. F., Maricato, A. L. M., Oliveira, C. R., Fernandes, D. M.</i>	
SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS MULTINUTRIENTES A BASE DE DIFERENTES FONTES DE FÓSFORO <i>Giroto, A. S., Valle, S. F., Molina, A., Reis, H., Guimarães, G. G. F., Ribeiro, C.</i>	592
PROPRIEDADES REOLÓGICAS DE SOLUÇÕES FILMOGÊNICAS DE GELATINA E NANOCRISTAIS DE CELULOSE PARA PRODUÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS POR CASTING CONTÍNUO <i>Leite, L. S. F., Moreira, F. K. V., Bras, J., Mattoso, L. H. C.</i>	597
IMOBILIZAÇÃO DA FITASE EM ZEOLITA MODIFICADA COM NÍQUEL: UMA FERRAMENTA PARA MELHORIA DA ATIVIDADE CATALÍTICA <i>Lopes, M. M., Coutinho, T. C., Farinas, C. S.</i>	602
REOLOGIA DE GEIS DE AMIDO DE MILHO INCORPORADOS COM CERA DE ABELHA <i>Luchesi, B. R., Moreira, F. K. V., Marconcini, J. M.</i>	607
CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE CUTINA DE TOMATE PRODUZIDOS COM DIFERENTES SOLVENTES ORGÂNICOS <i>Mattoso, A. L., Silva, V. M., Manrich, A., Mattoso, L. H. C., Martins, M. A.</i>	612
AVALIAÇÃO DA MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE DO NANOCOMPOSTO MAGNÉTICO À BASE DE ZEOLITA FAU PARA ADSORÇÃO DE CORANTE EM MEIO AQUOSO <i>Meirelles, M. R., Malafatti, J. O. D., Sciena, C. R., Raba, A. M., Zenatti, A., Escote, M. T., Paris, E. C.</i>	617
DESENVOLVIMENTO DE SENSORES NANOESTRUTURADOS PARA MONITORAMENTO DE GEOSMINA E 2-METILISOBORNEOL EM AMOSTRAS DE ÁGUA <i>Migliorini, F. L., Teodoro, K. B. R., Santos, D. M., Fonseca, F. J., Mattoso, L. H. C., Correa, D. S.</i>	622
PRODUÇÃO DE NANOCELULOSE VIA ROTAS ÁCIDA E ENZIMÁTICA <i>Oliveira, M. V., Bilatto, S., Squinca, P., Farinas, C. S.</i>	625
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO ORGÂNICA DE POLUENTES DE MATERIAIS HETEROESTRUTURADOS À BASE DE $CuWO_4$ <i>Raba, A. M., Malafatti, J., Parra, C. A., Joya, M. R., Paris, E. C.</i>	629
BIOMASSA FÚNGICA COMO BIOADSORVENTE PARA A REMOÇÃO DE COMPOSTOS INIBIDORES DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DO ETANOL 2G <i>Ribeiro, M. B. M., Farinas, C. S.</i>	633
UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA DE SUCO DE MAÇA PARA A PRODUÇÃO DE FILMES RESISTENTES À UMIDADE <i>Silva, V. M., Manrich, A., Mattoso, L. H. C., Martins, M. A.</i>	637
AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS BASEADOS EM POLI (ÁCIDO LÁTICO) E HIDROXIAPATITA PARA IMPRESSÃO 3D <i>Silva, B. C. R.; Bernardo, M. P., Moreira, F. K.V., L. H. C.</i>	642
PRODUÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE BATATA POR CASTING CONTÍNUO <i>Silveira, G. B., Chen, T. Y., Moreira, F. K. V.</i>	646
BIOSENSORES MICROFLUIDICOS APLICADOS NA DETECÇÃO DE MASTITE EM GADOS LEITEIROS <i>Soares, A. C., Soares, J. C., Rodrigues, V. C., Brandão, H.M., Oliveira Jr, O. N., Mattoso, L. H. C.</i>	651
BIOSENSORES POLIMÉRICOS NANOESTRUTURADOS APLICADOS PARA DIAGNÓSTICO DE MASTITE <i>Soares, J. C., Soares, A. C., Rodrigues, V. C., Brandão, H. M., Oliveira Jr, O. N., Mattoso, L. H. C.</i>	654
NANOCOMPOSTOS BASEADOS EM NANOCRISTAIS DE CELULOSE, NANOPARTÍCULAS DE PRATA E NANOFIBRAS ELETROFIADAS: USO EM UMA LÍNGUA ELETRÔNICA PARA DETECÇÃO DE METAIS PESADOS <i>Teodoro, K. B. R., Shimizu, F. M., Scagion, V. P., Correa, D. S.</i>	658
DETERMINAÇÃO DE FEROMÔNIOS QUE SERVIRÃO DE PARÂMETRO NA	663

INVESTIGAÇÃO DE SENSOES ELETRÔNICOS PARA A SEXAGEM DE PIRARUCUS <i>Tucunduva de Faria M., Paterno, L.G., Fonseca F.J.</i>	
EFEITO NAS PROPRIEDADES TÉRMICAS DA CONCENTRAÇÃO DE TITANATO DE BÁRIO EM NANCOMOPÓSITOS COM BORRACHA NATURAL <i>Zenatti, S., Savarez, T., Paris, E. C., E. J. Scaloppi Jr, Gonçalves, P. S., Martins, M. A.</i>	668
<b>CAPÍTULO 7 – Pós-colheita e Processamento de Alimentos</b>	
DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SOLUVEIS EM TOMATES UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO MÉDIO <i>Borba, K. R., Bonfim, N., Oldoni, F. C. A., Colnago, L. A., Ferreira, M. D.</i>	675
FILMES POLIMÉRICOS COM NANOPARTICULAS DE PRATA FORNECEM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA PARA EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS <i>Brito, S. C., Bresolin, J. D., Sivieri, K., Ferreira, M. D.</i>	680
UTILIZAÇÃO DA RMN-DT NO CONTROLE DE QUALIDADE DE MANTEIGAS E MARGARINAS <i>Garcia, R. H. S., Colnago, L. A.</i>	685
CONCENTRAÇÃO DE MACRO E MICROELEMENTOS DE AMÊNDOAS DE CASTANHEIRA-DO-BRASIL COLETADAS EM REGIÕES EXTRATIVISTAS DE RORAIMA <i>Guimarães, P. V. P., Durigan, M. F. B., Carvalho, G. F., Silva, T. Í. N., Marques, C. S.</i>	690
COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO ENTRE COMPONENTES DE QUALIDADE AGROINDUSTRIAL DE POLPAS DE CUPUAÇUZEIROS COM DIFERENTES NÍVEIS DE SUSCEPTIBILIDADE À VASSOURA-DE-BRUXA <i>Guimarães, P. V. P., Durigan, M. F. B., Lima Primo, H. E.</i>	695
SEMENTES DE MANGA: MATÉRIAS-PRIMAS PARA EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS <i>Melo, P. E. F., Silva, A. P. M., Oliveira, A. V., Souza Filho, M. S. M., Brito, E. S., Azeredo, H. M. C.</i>	700
EFFECT OF MONO AND BILAYER OF CARNAUBA WAX BASED NANO-EMULSION AND HPMC COATINGS ON POST-HARVEST QUALITY OF 'REDTAINUNG' PAPAYA <i>Miranda, M., Gozalbo, A. M., Sun, X., Plotto, A., Bai, J., Assis, O. B. G., Ferreira, M. D., E. Baldwin,</i>	705
COLAPSO INTERNO EM MANGAS: O PROBLEMA NA VISÃO DE ATACADISTAS <i>Oldoni, F. C. A., Mitsuyuki, M. C., Camara, F. M., Gutierrez, A. S. D., Colnago, L. A., Ferreira, M. D.</i>	710
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA EM FASE DE VAPOR DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SUAS COMBINAÇÕES CONTRA <i>Botrytis cinerea</i> <i>Oliveira Filho, J. G., Nobre, C. C. O., Silva, G. C., Azeredo, H. M. C., Ferreira, M. D.</i>	715
FILMES COMESTÍVEIS À BASE DE CELULOSE E GOMA DE CAJUEIRO COMO VEÍCULOS DE PROBIÓTICOS - ENSAIOS PRELIMINARES <i>Oliveira, A. V., Abreu, A. A. S., Gonçalves, C., Rodrigues, S., Azeredo, H. M. C.</i>	720
AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DA PIMENTA BIQUINHO CULTIVADA COM FERTILIZANTE MINERAL E BIOFERTILIZANTE <i>Pereira, J. M., Vicentini-Polette, C. M., Silva, P. P. M., Biazotto, A. M., Spoto, M. H. F., Sala, F. C., Verruma-Bernardi, M. R., Stolf, R.</i>	724
ANÁLISE ESTRUTURAL DA AMÊNDOA DE CUPUAÇU <i>Pessoa, J. D. C., Souza, J. M. L., Neto, V. B., Arduin, M.</i>	729
FILMES COMESTÍVEIS COM SUCO DE ACEROLA - REFORÇO E ESTABILIZAÇÃO DE COR <i>Ribeiro, H. L., Souza Filho, M. S. M., Brito, E. S., Azeredo, H. M. C.</i>	734
TOMATE CEREJA PROTEGIDO POR REVESTIMENTO DE PROLAMINAS DE MILHO <i>Rissi, M.; Dorm, B. C.; Bernardes Filho, R.; Colnago, L. A.; Forato, L. A.</i>	739
AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE CULTIVARES DE PIMENTA BIQUINHO PRODUZIDOS EM SISTEMA ORGÂNICO <i>Santos, A. S., Hubinger, S. Z., Ferreira, M. D., Oliveira, B. C., Medeiros S. D. S. de, Forti, V. A., Sala, F. C., Verruma-Bernardi, M. R.</i>	743

REVESTIMENTO À BASE DE FÉCULA DE MANDIOCA E GLICEROL PARA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DO MAMÃO <i>Sasaki, F. F. C., Gomes, T. C., Silva, L. E. P.; Santos, F. S.; Barbosa, L. F.; Souza, E. G.; Pereira, M. E. C.</i>	748
---	-----

#### ANEXO 1 – Resumo Palestrantes

DESVENDANDO O COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DA PLANTA, MODULADO POR UMA COMUNIDADE MICROBIANA SINTÉTICA, USANDO UMA PLATAFORMA DE FENOTIPAGEM EM TEMPO REAL <i>Armanhi, J., Souza, R., Arruda, P.</i>	755
MANEJO SUSTENTÁVEL DOS SOLOS E PLANTAS <i>Corá, J. E.</i>	756
DIGITAL AGRICULTURE TECHNOLOGIES FOR PRECISE AND SUSTAINABLE WATER USE <i>Evet, S. R.</i>	757
FIBRAS VEGETAIS E SEUS COMPONENTES COMO FONTE PARA MATERIAIS BIO-BASEADOS <i>Frollini, E.</i>	758
BIOPRODUCTS, BIOECONOMY AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT OF RENEWABLE RESOURCES <i>Ladisch, M., Ximenes, E., Santos, A. F., Farinas, C. S.</i>	759
EXPLORAÇÃO DO MICROBIOMA DAS PLANTAS PARA A PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ALIMENTOS <i>Mendes, R.</i>	760
DIGITAL AGRICULTURE: EMPOWERING WORLD AGRICULTURAL DEVELOPMENT: VISION OF A GLOBAL INVESTOR AND ENTREPRENEUR <i>Morgan, H. L.</i>	761
MULTIVARIATE ANALYSIS OF CHEMICAL SENSORS DATA <i>Natale, C. di</i>	762
NANOTECHNOLOGY AND ARTIFICIAL INTELLIGENCE <i>Oliveira Jr., O. N.</i>	763
REDUÇÃO DE DESPERDÍCIO NA PÓS-COLHEITA <i>Steven A. S.</i>	764

**CAPÍTULO 1**  
**Agricultura de Precisão**





## ÍNDICE DE ÁREA FOLIAR E PRODUTIVIDADE DO MILHO FERTIRRIGADO COM EFLUENTE DE ESGOTO TRATADO

Abreu, P. A. S.<sup>1</sup>, Costa, B. R. S.<sup>1</sup>, Oldoni, H.<sup>1</sup>, Silva, W. T. L.<sup>2</sup>, Bassoi, L. H.<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> FCA UNESP Depto de Engenharia Rural, Avenida Universitária, 3780, 18610-034, Botucatu, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, Caixa Postal 741, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: [luis.bassoi@embrapa.br](mailto:luis.bassoi@embrapa.br)

**Resumo:** A eficiência fotossintética do milho está ligada a captação de energia solar e juntamente com a adubação nitrogenada, refletem diretamente na produtividade da cultura. Assim sendo, um estudo foi realizado no município de São Carlos-SP para avaliar o índice de área foliar e a produtividade do milho fertirrigado com efluente de esgoto tratado. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram compostos por parcelas adubadas com NPK (nitrogênio, fósforo e potássio minerais), EfPK (efluente de esgoto tratado + fósforo e potássio minerais), Ef (efluente de esgoto tratado) e PK (fósforo e potássio minerais). O comprimento de espiga foi determinado com uso de escalímetro e o número de grãos por contagem visual. A produtividade foi estimada a partir da massa de grãos e a área útil da planta. O índice de área foliar (IAF) foi determinado utilizando-se um ceptômetro (AccuPAR LP-80). Os maiores valores de comprimento de espiga, número de grãos e produtividade foram alcançados pelos tratamentos NPK e EfPK. Para o IAF não houve diferença significativa entre os tratamentos NPK, EfPK e Ef. Existe correlação positiva e significativa entre o comprimento de espiga, número de grãos e produtividade de grãos com o IAF. Os tratamentos com maior IAF obtiveram os maiores valores de componentes de espiga e produtividade de grãos.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., nitrogênio, espiga, grãos, fossa séptica biodigestora.

### **LEAF AREA INDEX AND YIELD OF CORN FERTIRRIGATED WITH TREATED SEWAGE EFFLUENT**

**Abstract:** The photosynthetic efficiency of maize is related to solar energy uptake and together with nitrogen fertilization, directly reflect the corn crop yield. Therefore, a study was carried out in São Carlos, state of São Paulo, Brazil, to evaluate the leaf area index and the yield of corn fertigated with treated sewage effluent. The experimental design used was a randomized block design with four treatments and three replications. The treatments consisted of plots fertilized with NPK (mineral nitrogen, phosphorus, and potassium, EfPK (treated sewage effluent + mineral phosphorus and potassium), Ef (treated sewage effluent) and PK (mineral phosphorus and potassium). The ear length was determined using a scalimeter and the number of grains was determined by visual counting. Yield was estimated based on grain mass and plant spacing area. Leaf area index (LAI) was determined using a ceptometer (AccuPAR LP-80). The highest values of ear length, grain number and yield were observed in NPK and EfPK treatments. There was no significant difference for LAI among NPK, EfPK and Ef treatments. There is a positive and significant correlation among ear length, grain number and yield with IAF. The treatments with higher IAF obtained the highest values of ear components and grain yield.

**Keywords:** *Zea mays* L., nitrogen, ear, grain, biodigester septic tank.

### **1. Introdução**

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho do mundo, e a alta produção alcançada no país deve-se as duas safras realizadas durante o ano, a tradicional safra de verão seguida de uma outra

denominada de safrinha. Na safra 2017/2018, o país alcançou uma produção de 80.709,5 mil toneladas, e uma estimativa de 99.312,3 mil toneladas para 2018/2019 (CONAB, 2019a).

A produtividade de grãos de milho depende diretamente da eficiência fotossintética da planta, e tal parâmetro pode ser maximizado por uma melhor interceptação de radiação solar pelo dossel das culturas (MARCHÃO et al., 2006). Esse aumento na produção da cultura pode ser explicado por uma melhora no aumento da conversão da energia solar dentro da planta e, posteriormente, em maior desenvolvimento de componentes de espiga, refletindo diretamente na produtividade (CRUZ et al., 2008). Além disso, um maior índice de área foliar (IAF) no milho pode ser obtido com o aumento da disponibilidade de nitrogênio às plantas (FRANÇA et al., 2011), e plantas com maior IAF tem maior potencial de captação de energia solar e melhores produtividades (CRUZ, 2013).

Outro aspecto que deve ser abordado em relação à cultura do milho é o relacionado ao reuso da água na forma do efluente de esgoto tratado como fertilizante. Essa prática pode trazer benefícios positivos, como disponibilizar nutrientes presentes na água de reúso à cultura; reduzir ao mesmo tempo o uso da água; aumentar a produção agrícola; e trazer benefícios ambientais (USEPA, 2012). Cada tipo de efluente tem características específicas e poderá trazer resultados diferentes às culturas, dependendo também do volume e quantidade de nutrientes e/ou contaminantes aplicados.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o índice de área foliar (IAF) em função de componentes de espiga (comprimento e número de grãos) e a produtividade de grãos de milho fertirrigado com efluente de esgoto tratado pela fossa séptica biodigestora.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1 Local de estudo e delineamento experimental**

O experimento foi realizado na área experimental do Laboratório de Referência Nacional em Agricultura de Precisão (LANAPRE), pertencente à Embrapa Instrumentação, em São Carlos, SP. A área encontra-se a 860 m de altitude e nas coordenadas geográficas de 21°57'13.9" S e 47°51'10.9" O. A cultivar de milho P4285VYHR foi semeada em 4 de outubro de 2018, em espaçamento entre fileiras de 0,8 m e entre plantas de 0,2 m, em um solo classificado como Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (SARTORELLI et al., 2007). A irrigação foi realizada por meio de sulcos nas entrelinhas das fileiras de plantas, e o manejo foi realizado com base na evapotranspiração da cultura. A colheita foi realizada em 4 de fevereiro do 2019, com 120 dias de ciclo. Os tratamentos utilizados foram: 1 - NPK, plantas adubadas exclusivamente com adubo mineral (ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio); 2 - EfPK, plantas adubadas com efluente de esgoto tratado por fossa séptica biodigestora (fonte de nitrogênio) e PK mineral (superfosfato simples e cloreto de potássio); 3 - Ef, plantas adubadas somente com efluente de esgoto tratado; e 4 - PK, plantas adubadas com PK mineral (superfosfato simples e cloreto de potássio). Cada parcela experimental possuiu uma área de 43,2 m<sup>2</sup>, sendo 9,0 m de comprimento e 4,8 m de largura. O delineamento do experimento foi do tipo blocos casualizados, com quatro tratamentos e três repetições. O volume de Ef e a dose de fertilizantes minerais nas parcelas foi calculado em função da necessidade de N, P e K da cultura, segundo recomendação agrônômica (RAIJ et al., 1997).

### **2.2 Parâmetros de espiga**

O comprimento de espiga foi determinado com um escalímetro na escala de 1:100 em centímetros. O número de grãos por espiga foi determinado pela contagem visual. A produtividade, em kg ha<sup>-1</sup>, a 13% de umidade, com base na massa de grãos por espiga e na área útil de cada planta (0,16 m<sup>2</sup>) (Equação 1).

$$\text{Produtividade} = \frac{(\text{massa de grãos (kg)} * 10000)}{\text{área útil da planta}} \quad (1)$$

### 2.3 Índice de área foliar (IAF)

Na fase reprodutiva (R3), quando o milho estava com máxima altura, o índice de área foliar foi estimado com o uso de um ceptômetro (AccuPAR LP-80). A captação da radiação fotossinteticamente ativa foi feita com um sensor acima do dossel e outro abaixo, de forma instantânea. A avaliação foi feita em 16 plantas por parcela na área útil, com um total de 196 plantas analisadas, em condições de céu sem a presença de nuvens.

### 3. Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta a análise de variância para as variáveis comprimento de espiga (cm), número de grãos por espiga, produtividade (kg ha<sup>-1</sup>) e índice de área foliar (IAF), que apresentaram diferença significativa a 1% entre tratamentos, não havendo diferença significativa entre blocos.

Tabela 1. Análise de variância para comprimento de espiga (CE), número de grãos por espiga (NGE), produtividade (P) e índice de área foliar (IAF).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrados médios			
		CE (cm)	NGE	P (kg ha <sup>-1</sup> )	IAF
Tratamento	3	34,48**	42788,12**	32525560**	1,20**
Bloco	2	0,33 <sup>ns</sup>	450,43 <sup>ns</sup>	458115 <sup>ns</sup>	0,07 <sup>ns</sup>
Erro	6	0,46	753,37	449308	0,06
C.V. (%)		4,44	7,41	7,91	7,65
Média geral		15,31	370,36	8476,45	3,16

\*\* e ns: significativo a 1% de probabilidade e não significativo, respectivamente, pelo teste F

Os maiores valores de comprimento de espiga (Tabela 2) ocorreram nos tratamentos NPK e EfPK. Kappes (2012) alcançou comprimentos de espigas menores (16,76 cm) aos encontrados nesse trabalho com doses de nitrogênio de 120 kg ha<sup>-1</sup> (próximo aos 135 kg ha<sup>-1</sup> utilizada nesse trabalho). No entanto, Moraes et al. (2014) e Moretti (2017) avaliaram o cultivo do milho sob aplicação de efluente de suínos e adubação química, e apresentaram maiores valores de comprimento de espiga, 16,5 e 18,1 cm, respectivamente. Esses resultados indicam que o efluente pode ser utilizado como fonte de adubação gerando altas produtividades de milho.

Tabela 2. Valores médios do comprimento da espiga (CE), número de grãos por espiga (NGE), produtividade de grãos (P) e índice de área foliar (IAF), nos tratamentos NPK, EfPK, Ef e PK. Fontes de N, P e K minerais: ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio. Fonte do efluente de esgoto tratado (Ef): fossa séptica biodigestora.

Tratamentos	CE (cm)	NGE	P (kg ha <sup>-1</sup> )	IAF
NPK	18,92 a	486,95 a	12127,61 a	3,69 a
EfPK	16,76 ab	427,23 ab	9774,63 ab	3,58 a
Ef	14,61 b	357,51 b	7623,75 b	3,07 ab
PK	10,97 c	209,75 c	4379,83 c	2,31 b

Valores nas colunas seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

De acordo com a Tabela 2, os tratamentos NPK e EfPK apresentaram os melhores resultados de número de grãos por espiga. A aplicação do efluente sem complementação de fósforo e potássio minerais reduziu em 26,63% o número de grãos por espiga em comparação ao tratamento NPK, mas a maior redução ocorreu no tratamento PK, sem aplicação de nitrogênio (56,92%), mostrando assim a importância desse nutriente para a cultura do milho. O aumento do número de grãos por espiga pode aumentar a produtividade do milho (MUNDSTOCK E SILVA, 2005).

Os maiores valores de produtividades foram encontrados no NPK e EfPK, com 12.127,61 e 9.774,63 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Moraes et al. (2014), que ao compararem o uso do adubo químico com um efluente tratado de

suíno, a partir da dose de nitrogênio de 118,5 kg ha<sup>-1</sup>, também não encontraram diferença significativa de produtividade de grãos. Os resultados de produtividade de NPK e EfPK foram superiores à média de produtividade da safra no ano de 2018 no estado de São Paulo, que teve médias de 6.444 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2019b).

Para o índice de área foliar (IAF) (Tabela 2), apenas o tratamento PK diferiu dos tratamentos NPK e EfPK, mas foi estatisticamente igual ao Ef. Os tratamentos com maior IAF, com exceção do Ef, também apresentaram espigas com maior comprimento, número de grãos por espiga, e produtividade de grãos. Resultados encontrados por Cruz (2013) mostram que plantas com maior IAF apresentaram maiores valores relacionados aos parâmetros de produção da espiga, pois têm maior capacidade de captação de energia solar, o que confere maior conversão de energia e maior produção de biomassa.

A Figura 1 apresenta a análise de regressão entre o IAF medido em cada tratamento e os respectivos parâmetros medidos na espiga. Nas Figuras 1A e 1B, as regressões foram significativas a 1%, existindo uma relação positiva entre IAF com o comprimento da espiga e número de grãos por espiga. Na Figura 1C, a regressão linear foi significativa a 5%, indicando que existe uma relação direta entre IAF e a produtividade de grãos. O aumento ocasionado do IAF nos parâmetros da espiga influencia na produtividade da cultura.

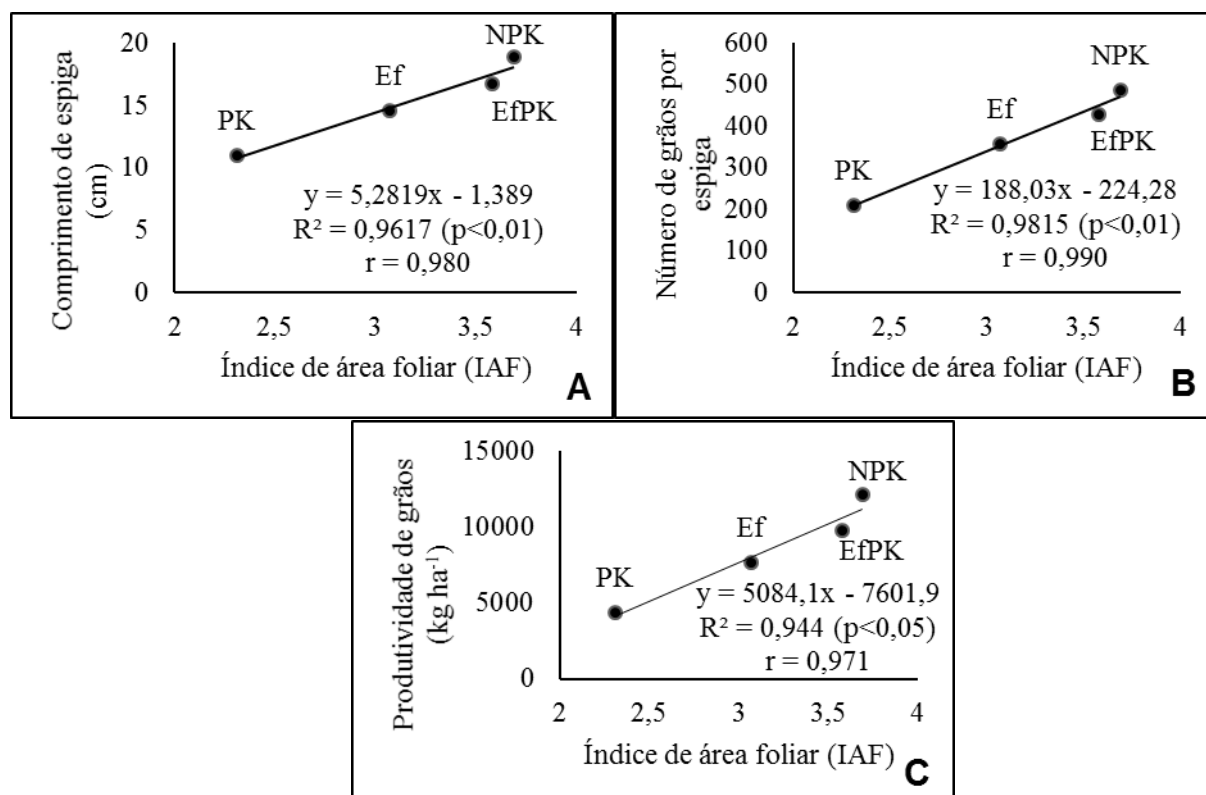


Figura 1. Comprimento de espiga em função do índice de área foliar (A), número de grãos por espiga em função do índice de área foliar (B) e produtividade de grãos em função do índice de área foliar (C). Valores médios referentes aos tratamentos NPK, EfPK, Ef e PK.

#### 4. Conclusões

O uso do efluente de esgoto tratado, suplementado com fósforo e potássio mineral (EfPK) fez com que os valores de índice de área foliar (IAF), comprimento e número de grãos por espiga e produtividade de grãos fossem iguais aos resultados obtidos com o uso do nitrogênio, fósforo e potássio minerais (NPK). O IAF também foi maior com o EfPK e o NPK.

Somente o uso do efluente de esgoto tratado não foi capaz de atingir valores de componentes de espiga e produtividade de grão iguais aos obtidos quando do uso de fertilizantes minerais (NPK), sendo igual apenas quanto ao IAF.

A produtividade de grãos, quando utilizado somente o efluente de esgoto tratado, foi sempre superior àquela quando foi utilizado fósforo e potássio minerais, mostrando que o efluente pode ser efetivamente uma fonte de nitrogênio e outros nutrientes para a cultura.

### Agradecimentos

À Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista (FCA UNESP) campus de Botucatu, pelo ensino em nível de pós-graduação e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico (CNPq) pela concessão de bolsas de estudo aos três primeiros autores; e à Embrapa Instrumentação pela infraestrutura para o desenvolvimento do trabalho de pesquisa.

### Referências

- CONAB. 2019. Acompanhamento da safra brasileira. Brasília, DF, v.6, n, 11, ago, 2019a. Safra 2018/19, décimo primeiro levantamento. Disponível em:< [https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletimdasafra/graos/item/download/27966\\_1f92dcec49263fdf5a762b2d25549cce](https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletimdasafra/graos/item/download/27966_1f92dcec49263fdf5a762b2d25549cce)>. Acessado em 22 de agosto de 2019.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira grãos. Brasília, DF, v.6, n, 7, abr, 2019b. Safra 2018/19, sétimo levantamento. Disponível em:< [https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/25556\\_fe55bd91a1e1de2dae35cf40956a7d16](https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/25556_fe55bd91a1e1de2dae35cf40956a7d16)>. Acessado em: 22 de agosto de 2019.
- CRUZ, S. J. S. Características morfofisiológicas de plantas e produtividade do milho. 2013. Tese (Doutorado em Agronomia: Agricultura – Departamento Produção e Melhoramento vegetal) - Universidade Estadual de São Paulo (UNESP). Botucatu, 2013.
- CRUZ, S. C. S. et al. Adubação nitrogenada para o milho cultivado em sistema plantio direto, no Estado de Alagoas. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 12, n. 1, p. 62-68, ago, 2008.
- KAPPES, C. Coberturas vegetais, manejo do solo e doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho. 2012. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Ilha Solteira, 2012.
- FRANÇA, S.; MIELNICZUK, J.; ROSA, L. M. G.; BERGAMASCHI, H.; BERGONCI, J. I. Nitrogênio disponível ao milho: Crescimento, absorção e rendimento de grãos. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental v.15, n.11, p.1143–1151, 2011.
- MARCHÃO, R.L. et al. Interceptação da radiação fotossinteticamente ativa e rendimento de grãos de milho adensado. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.5, p.170-181, 2006
- MORÃES, M. T. et al. Dejetos líquidos de suínos como alternativa a adubação mineral na cultura do milho. Ciências Agrárias, Londrina, v. 35, n. 6, p. 2945-2954, nov/dez, 2014.
- MORETTI, S. M. L. Irrigação de dois cultivos de milho com efluente de suinocultura tratado em biodigestor anaeróbico: avaliação no sistema solo-água-ar-planta. 2017. Tese (Doutorado em ciências – Química na Agricultura e no Meio Ambiente). Universidade de São Paulo (USP). Piracicaba, 2017.
- MUNDSTOCK, C. M.; SILVA, P. R. F. Manejo da cultura do milho para altos rendimentos de grãos. Porto Alegre: Departamento de Plantas de Lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.
- RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1997.
- SARTORELLI, P. A. R.; SILVA, J. M. S.; GORENSTEIN, M. R.; GOMES, J. E.; ÁVILA, E. Q. Rebrotas após fogo de espécies arbóreas de diferentes grupos fenológicos foliares em cerrado stricto sensu. Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal, n. 10, 2007.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. Guidelines for Water Reuse. EPA/600/R-12/618 Washington, DC, USA. 640p. 2012.

**OTIMIZAÇÃO DA PORCENTAGEM DE LIGANTE PARA ANÁLISE DE METAIS POR  
DP-LIBS DAS AMOSTRAS DE SOLO E SEDIMENTO DO PANTANAL MATO-  
GROSSENSE**Araujo, R. R.<sup>1,\*</sup>, Milori, D. M. B. P.<sup>2</sup><sup>1</sup> Universidade de São Paulo (USP) – Instituto de Química de São Carlos, Av. Trabalhador São-Carlense, 400, 13560-970, São Carlos, São Paulo<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: rodrigorossi@usp.br

**Resumo:** Nesse estudo avaliou-se a influência da porcentagem de um ligante (KBr) no processo de compactação do solo em pastilhas, para análise posterior pela espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser, de pulso duplo (DP-LIBS). Para isso, algumas amostras de solo e sedimento recolhidas da região de Nhecolândia, no Pantanal Mato-Grossense, foram misturadas com diferentes concentrações (20, 25, 30 e 35% da massa total da pastilha) do ligante. Observou-se que as porcentagens de 30 e 35% de KBr apresentaram os maiores valores da relação sinal-ruído (SNR) para os elementos propostos (Ni, Zn, Cr, Cu, Cd, Pb, Mg, Al, Mn, Fe), indicando uma melhora no sinal analítico. Ambas também apresentaram uma maior precisão (desvio padrão relativo – RSD – de 7,04% e 6,74%; respectivamente) comparativamente às outras, provando que uma maior compactação da amostra reduz os efeitos de matriz e as flutuações do plasma.

**Palavras-chave:** LIBS, ligantes, metais, solo, sedimento.

***BINDER PERCENTAGE OPTIMIZATION FOR METALS DP-LIBS ANALYSIS OF SOILS  
AND SEDIMENTS OF MATO-GROSSO'S PANTANAL***

**Abstract:** This study evaluated the influence of the binder (KBr) percentage in the process of soil compressing into pellets, prior to the analysis by double-pulse laser-induced breakdown spectrometry (DP-LIBS). A few soil and sediment samples collected from the Nhecolândia region, located in the Mato-Grosso's Pantanal, were mixed with various binder concentrations (20, 25, 30 and 35 wt%). The percentages of 30 and 35 wt% presented the higher signal-noise ratio (SNR) for the proposed elements (Ni, Zn, Cr, Cu, Cd, Pb, Mg, Al, Mn, Fe), improving the analytical signal intensity. Both concentrations also presented better precision (relative standard deviation – RSD – of 7,04% and 6,74%; respectively) in comparison with the others, which suggests that a higher sample compaction reduces matrix effects and plasma fluctuations.

**Keywords:** LIBS, binders, pellets, metals, soil, sediment.

**1. Introdução**

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS), é uma técnica analítica versátil, rápida, de baixo custo, capaz de detecção simultânea, multielementar e não destrutiva da amostra (sólida, líquida ou gasosa) (AWASTHI et al., 2017).

A técnica consiste no uso de um ou mais *lasers* de alta potência ( $\pm$  GW cm<sup>-2</sup>), focalizados por um conjunto de lentes, para a remoção de uma pequena massa de amostra e gerando um microplasma com temperatura de até 10.000 K. Esta temperatura provoca a atomização e ionização das espécies químicas presentes. Ao retornarem para o estado fundamental, emitem uma radiação característica que é capturada por fibras ópticas e separada por um espectrômetro (CREMERS e RADZIEMSKI, 2013; SANTOS JUNIOR et al., 2006).

Algumas das limitações da técnica são providas principalmente devido a flutuações na intensidade do laser e na rugosidade da amostra, que podem alterar o plasma gerado, dificultando a

reprodutibilidade de uma medida e ocasionando desvios na relação entre intensidade de emissão e a concentração (LAWRENCE-SNYDER et al., 2007). Estes “efeitos de matriz”, são mais acentuados em amostras de composição complexa, como solos e sedimentos (FERREIRA et al., 2008).

As amostras normalmente são compactadas na forma de “pastilhas” para as análises, afim de conferir uma maior uniformidade e reduzir os efeitos de matriz. Porém, amostras de perfil mais arenoso muitas vezes possuem baixo potencial de coesão e, para tanto, utiliza-se o auxílio de compostos secundários no processo de compactação, chamados de “ligantes”. A escolha do ligante é relativa, e depende dos elementos de interesse do analista, podendo ser utilizados KBr, Ag, celulose, Poli(vinil álcool), amido, etc. (GONDAL et al., 2007; YAO et al., 2017). Como neste trabalho pretende-se determinar a concentração de metais (Ni, Zn, Cr, Cu, Cd, Pb, Mg, Al, Mn, Fe) e, possivelmente, de carbono (C) o composto mais indicado é o KBr por sua facilidade de uso, comprovada eficácia na melhora de sinal analítico de alguns elementos metálicos e por ser livre de interferentes para linhas de carbono (GONDAL et al., 2007; YAO et al., 2017).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Delineamento experimental

Inicialmente, as amostras coletadas da região de Nhecolândia (MT) foram liofilizadas e secas por cerca de 72 horas num liofilizador Terroni®, modelo L6000 com uma bomba de vácuo Edwards®, RV5. Em seguida, as amostras foram pulverizadas manualmente utilizando um almofariz e pistilo e o produto foi passado por uma peneira 100 mesh para remoção de impurezas e partículas maiores do que 0,149  $\mu\text{m}$ , garantindo a elas uma maior homogeneidade.

Assim, prosseguiu-se para a etapa de preparo de pastilhas com uso de KBr. Foram testadas 4 porcentagens diferentes, sendo elas 20, 25, 30 e 35% da massa total da pastilha (500 mg). Um total de 7 amostras foram escolhidas de maneira a garantir uma máxima representatividade e heterogeneidade às medidas, sendo uma delas uma amostra certificada (CRM).

O reagente brometo de potássio (CAS 7758-02-3) utilizado é da marca Synth com 99% de pureza e foi misturado com a amostra por cerca de 2 minutos manualmente utilizando um almofariz e pistilo. O produto foi então compactado em pastilhas com 15mm de diâmetro e 3mm de espessura através de uma prensa hidráulica manual, com uma pressão de 5 toneladas, por cerca de 1 minuto.

### 2.2. Instrumentação DP-LIBS

O sistema DP-LIBS utilizado é composto por dois *lasers* Nd:YAG operando em comprimentos de 1064 nm (Infravermelho) e 532 nm (visível), respectivamente. O primeiro *laser* é um *Q-switched* (Quantel, Ultra) com energia máxima de pulso de 75 mJ, duração de pulso de 6 ns e taxa de repetição de 20 Hz. O segundo corresponde a um *Q-switched* (Quantel, Brillant) acoplado a um segundo gerador harmônico, com duração de pulso de 4 ns, taxa de repetição de 20 Hz e uma energia máxima de pulso de 180 mJ. Um sistema detector com fibras ópticas Aryelle 400-*Butterfly*, da Lasertechnik Berlin (Berlim, Alemanha), foi usado para a identificação e separação dos comprimentos de onda. Tal espectrômetro conta com um dispositivo de carga acoplada intensificada (ICCD) com 1024 x 1024 pixels e utiliza duas bandas espectrais, a primeira de 175 a 330 nm e, a segunda, de 275 a 750 nm, com resoluções de 13 a 24 pm e 29 a 80 pm, respectivamente. Para sincronização do tempo de atraso entre os pulsos e o *delay-time*, foi utilizado um gerador de pulsos com oito canais modelo 9618, da marca Quantum Composers Inc. (Montana, EUA).

Para os experimentos, o número de pulsos utilizado foi de 5, a energia do 1º laser, foi fixada em 65%, enquanto que a energia do segundo laser foi fixada em 100%. O *delay-time* utilizado foi de 500ns e o tempo de atraso de integração em 500ns.

### 2.3. Escolha das linhas de emissão e resumo dos cálculos

As linhas dos elementos para a avaliação do método proposto foram escolhidas de acordo com as pesquisas feitas na base de dados do *National Institute of Standards and Technology* (NIST)

(NIST, 2019). Buscou-se linhas que possuíssem boa intensidade relativa e fossem livre de interferência por sinais próximos de outros elementos, diminuindo a incidência de erro nos cálculos. As linhas escolhidas são mostradas pela Tabela 1.

Tabela 1- Elementos e seus comprimentos de onda correspondentes.

Elemento	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	Zn
Linha (nm)	396.1	228.8	520.6	324.7	238.2	518.4	257.6	352.4	405.78	213.8

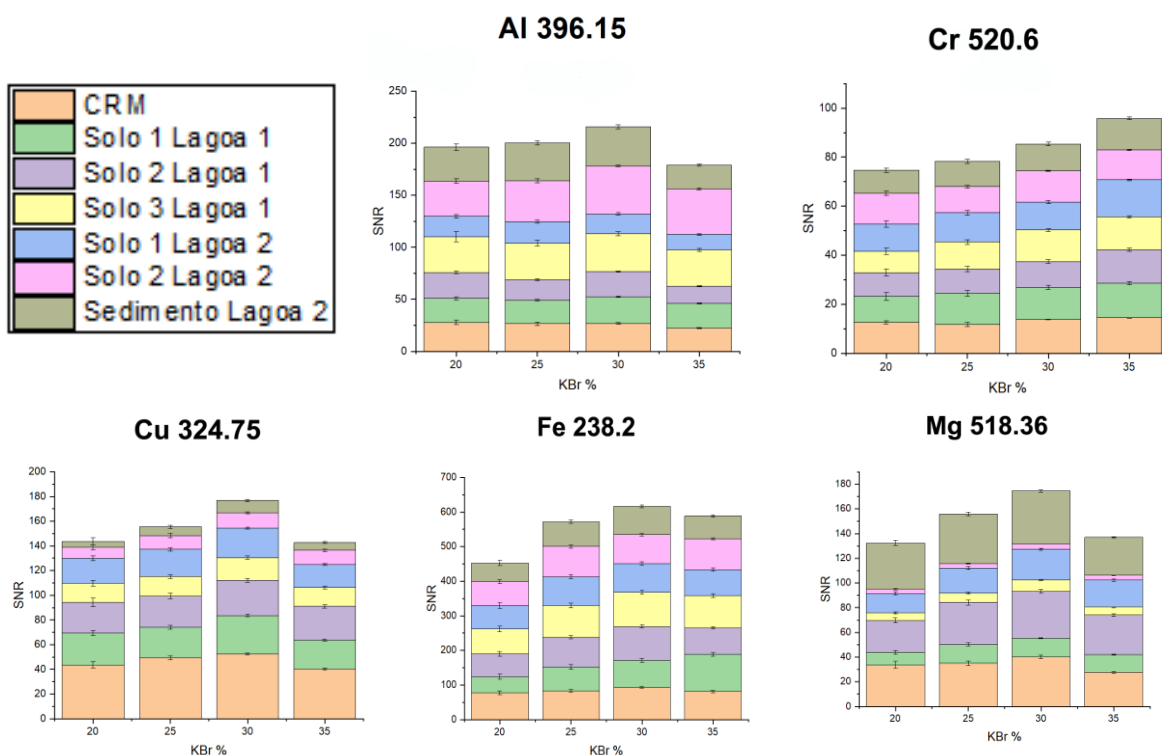
Utilizou-se a relação sinal-ruído (SNR) para a determinação da influência da porcentagem de ligante em cada amostra, que nada mais é do que a intensidade máxima do sinal de interesse ( $I_{máx}$ ) dividida pelo desvio padrão do sinal de fundo (*background noise* –  $\sigma_{ruído}$ ), onde não há presença de elementos (Equação 1). Também estimou-se o erro experimental de cada porcentagem de KBr através do cálculo do desvio padrão relativo (RSD), no qual  $\sigma_{amostral}$  é o desvio padrão e  $\bar{X}$  é a média amostral (Equação 2).

$$SNR = \frac{I_{máx}}{\sigma_{(ruído)}} \quad (1)$$

$$RSD (\%) = \frac{\sigma_{amostral} * 100}{\bar{X}} \quad (2)$$

### 3. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos estão ilustrados nos gráficos da Figura 1. Para cada elemento e cada porcentagem foram plotados os gráficos em barra agrupados, de forma a evidenciar a diferença da relação sinal-ruído dentre elas.





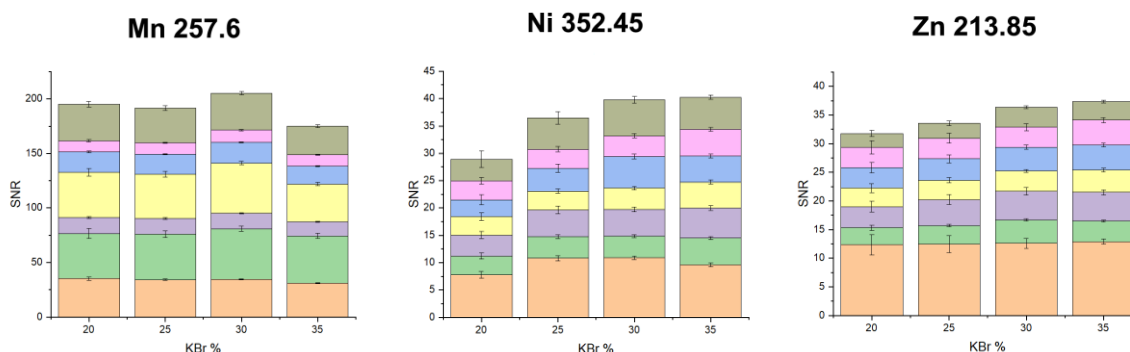


Figura 1. Valores de SNR dos diferentes elementos analisados para cada grupo de %KBr.

Com exceção da amostra certificada (CRM), não foi possível se observar o sinal analítico para cádmio (Cd) e chumbo (Pb) devido à sua pequena concentração no restante das amostras, ficando abaixo do limite de detecção (LOD) instrumental.

Observa-se, pela Figura 1, que a concentração de 30% apresentou os maiores valores de SNR para os elementos Al, Cu, Fe, Mg, Mn e Ni; enquanto que Cr e Zn foram maiores com 35% de KBr. Contudo, para 35%, os valores de SNR caem significativamente para alguns dos elementos mais abundantes, como Al, Cu, Fe, Mg e Mn. Isto pode estar relacionado com flutuações da massa de amostra ablada, durante a geração do plasma, devido à maior coesão da pastilha. Tal fenômeno pode ser observado qualitativamente pela Figura 2, das imagens obtidas através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A massa removida está diretamente relacionada com o volume do plasma, pois uma ablação mais eficiente implica numa quantidade maior de elementos sendo vaporizado; e, conseqüentemente, uma intensidade maior de sinal sendo medida (LEME, 2011).

Os valores médios, calculados, de RSD para o grupo de 20, 25, 30 e 35% de KBr foram de 16,36%; 10,08%; 7,04% e 6,74% respectivamente. Nota-se que os menores valores de RSD foram obtidos conforme a concentração de KBr aumentou, indicando que a dispersão do sinal foi menor devido à melhor compactação da amostra. Isto fica mais evidente ao se observar a superfície das pastilhas após a incidência do feixe do laser, na Figura 2.

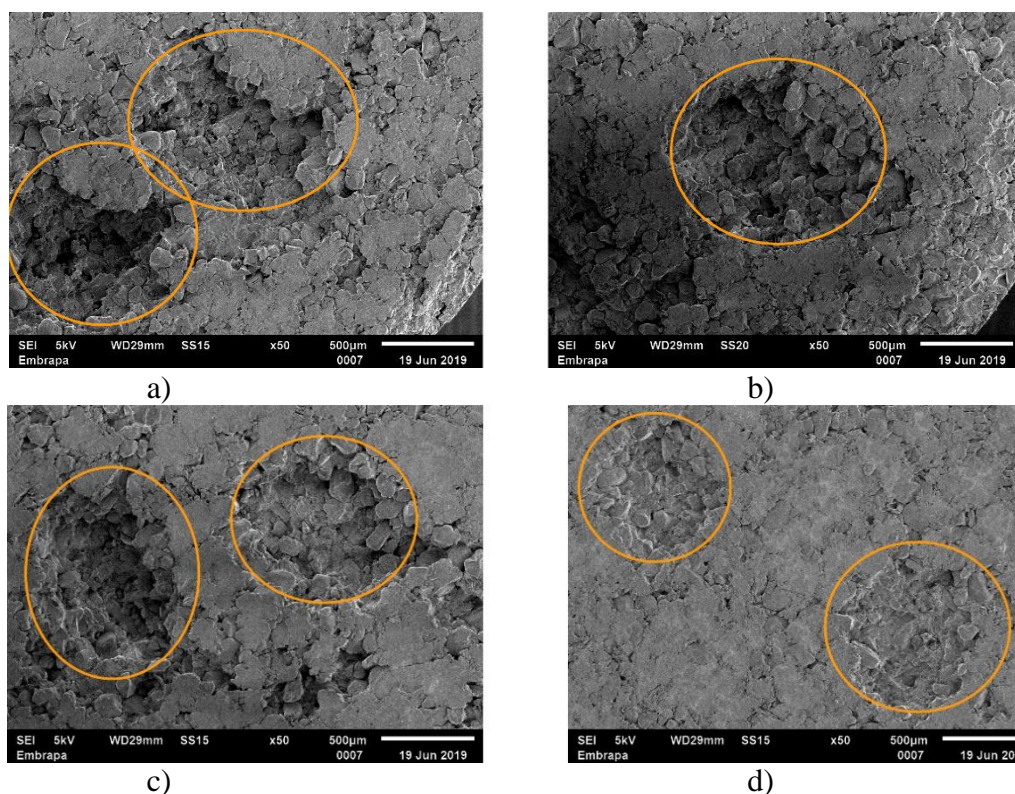


Figura 2. Superfície ampliada 50x, onde a), b), c) e d) correspondem às porcentagens de 20, 25, 30 e 35% KBr.

#### 4. Conclusões

O uso de KBr como ligante para o processo de compactação da amostra em pastilhas mostrou-se efetivo, permitindo a análise por DP-LIBS. Observou-se também que um aumento na concentração (porcentagem) do ligante reduziu o erro experimental significativamente (valor de RSD de 6,74% para 35% de KBr), indicando uma análise mais precisa e com menor dispersão por efeitos de matriz. A melhor relação sinal-ruído, no entanto, foi obtida com 30% KBr, para os elementos estudados; apresentando um RSD equiparável (7,04%) com a porcentagem de 35%.

#### Agradecimentos

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro nessa pesquisa, à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pela infraestrutura e a todos os funcionários e colegas do Grupo de Óptica e Fotônica pelo apoio.

#### Referências

- AWASTHI, S.; KUMAR, R.; DEVANATHAN, A.; ACHARYA, R.; RAI, A. K. Multivariate methods for analysis of environmental reference materials using laser-induced breakdown spectroscopy. **Analytical Chemistry Research**, v. 12, p. 10–16, 2017.
- CRÉMERS, D. A.; RADZIEMSKI, L. J. **Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy**. New York: John Wiley & Sons, 2013. 418 p.
- FERREIRA, E. C.; MILORI, D. M. B. P.; FERREIRA, E. J.; DA SILVA, R. M.; MARTIN NETO, L. Artificial neural network for Cu quantitative determination in soil using a portable Laser Induced Breakdown Spectroscopy system. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 63, n. 10, p. 1216–1220, 2008.
- GONDAL, M. A.; HUSSAIN, T.; YAMANI, Z. H.; BAIG, M. A. The role of various binding materials for trace elemental analysis of powder samples using laser-induced breakdown spectroscopy. **Talanta**, v.72, n. 2, p. 642-649, 2007.
- LAWRENCE-SNYDER, M.; SCAFFIDI, J.; ANGEL, S. M.; MICHEL, A. P. M.; CHAVE, A.D. Sequential-pulse laser-induced breakdown spectroscopy of high-pressure bulk aqueous solutions. **Applied Spectroscopy**, v. 61, n. 2, p. 171–176, 2007.
- LEME, F. de O. Avaliação da espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) para a análise de embalagens plásticas. 2011. 105 p. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, CENA-USP, Piracicaba, 2011.
- NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST). Disponível em: <[http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines\\_form.html](http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html)>. Acesso em: 05 set. 2019.
- SANTOS JUNIOR, D.; TARELHO, L. V.; KRUG, F. J.; MILORI, D. M. B. P.; MARTIN NETO, L.; VIEIRA JÚNIOR, N. D. Espectrometria De Emissão Óptica Com Plasma Induzido Por Laser (Libs). **Revista Analytica**, p. 10, 2006.
- YAO, S.; ZHAO, J.; XU, J.; LU, Z.; LU, J. Optimizing the binder percentage to reduce matrix effects for the LIBS analysis of carbon in coal. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 32, p. 766-772, 2017.

**TRANSFORMANDO DESPERDÍCIO DE ALIMENTOS EM INDULGÊNCIA COM O USO DE NOVAS TECNOLOGIAS**P. L. S. Bergo<sup>1,\*</sup>, M. Caetano<sup>2</sup>, J. D. C. Pessoa<sup>3</sup>, P.E. Cruvinel<sup>3</sup><sup>1</sup> Av. Bruno Ruggiero Filho, 101, 13562-420, São Carlos, SP<sup>2</sup> Rua Brás Cubas, 136, 13564-120, São Carlos, SP<sup>3</sup> Embrapa, Rua XV de novembro, 1452, 13.560-970, São Carlos, SP\* Autor correspondente, e-mail: [patriciabergo@gmail.com](mailto:patriciabergo@gmail.com)

**Resumo:** Muitos alimentos com bom valor nutricional são desperdiçados por não possuírem as características estéticas que agradem o consumidor. Esse cenário começa timidamente a mudar com a introdução da manufatura aditiva para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios, com potencial aplicação em alimentos indulgentes. O presente trabalho aborda o desenvolvimento de uma formulação para um produto comestível enriquecido com vegetais e aplicável à tecnologia de impressão tridimensional (3D). A formulação comestível utiliza chocolate, um alimento indulgente muito consumido globalmente. A matriz de chocolate foi modificada com a introdução de farinhas de alimentos desidratados de origem vegetal (obtidas de produtos fora dos padrões comerciais de cor, tamanho ou forma), aumentando o seu valor nutricional. Até o momento conseguiu-se obter matrizes comestíveis com boas características sensoriais visuais e de sabor, fisicamente estáveis e sem *blooming*. Atualmente ajustes têm sido realizados para melhorar a textura do produto. A impressão 3D tem apresentado resultados satisfatórios, levando a produtos fisicamente estáveis. No entanto, ajustes no controle da temperatura durante a extrusão ainda são necessários para manter a viscosidade constante durante toda a aplicação. Nesse cenário a manufatura aditiva tem-se mostrado adequada para o aproveitamento de desperdícios de origem vegetal por meio de alimentos indulgentes.

**Palavras-chave:** aproveitamento máximo de alimentos, valor nutricional, alimentos indulgentes, chocolate, manufatura aditiva

**TRANSFORMING FOOD WASTE INTO INDULGENCE BY USING NEW TECHNOLOGIES.**

**Abstract:** Many nutrient-rich foods are wasted simply due to lack of beauty. This scenario is slowly changing with the introduction of additive manufacture for new food products, especially the indulgent ones. Here, Three-Dimensional (3D) printing technology has been applied to develop a chocolate-based edible prototype. Chocolate is by far one of the most consumed indulgent foods. Its composition has been modified by adding some powdered dehydrated vegetable/fruit that had no commercial value to boost the nutritional content. The products under development are showing good sensory properties, especially look and taste. They are physically stable, and minor blooming is occasionally detected. Efforts are being made to adjust the formulation to improve textural quality. Satisfactory results were obtained regarding the 3D printing technology, with good stability of the samples printed so far. The maintenance of temperature control is now under scrutiny to stabilize the viscosity throughout the process. Overall, additive manufacture has exhibited potential application in indulgent food development like chocolate.

**Keywords:** foodsaving, nutritional value, indulgent food, chocolate, additive manufacture

**1. Introdução**

Atualmente, aproximadamente 1,3 bilhões de alimentos são perdidos ou desperdiçados, no mundo o que equivale a 30% de toda a produção global do gênero. No Brasil, dos alimentos que vão parar no lixo 28% nem chegam à mesa do consumidor por apresentarem algum tipo de defeito

ou por deterioração durante o processo de transporte ou armazenagem (PORPINO et al., 2018).

De modo geral, o consumidor utiliza os cinco sentidos sensoriais na tomada de decisão para aquisição de gêneros alimentícios *in natura*, sendo a visão o primeiro a ser empregado. A estética ainda é um critério bastante influente no processo de compra de alimentos. O consumidor frequentemente descarta produtos que não “agradam aos olhos”, embora eles possam ter qualidades nutricionais tão boas ou até maiores que equivalentes ou superiores. Para ilustrar o impacto do desperdício de alimentos considerados “feios” na economia de um país 20% a 30% da produção anual de hortifruti não é comercializada em Portugal devido a defeitos na cor, formato ou tamanho do alimento, de acordo com a Confederação Nacional de Agricultores daquele país (CAPUCHO, 2016).

Felizmente esse cenário começou a mudar nos últimos anos. Os alimentos fora dos padrões estéticos, além de contribuírem para reduzir as taxas de desperdício, vêm impulsionando novos negócios ao redor do mundo. Uma das novas tendências, ainda bastante tímida, é o uso da manufatura aditiva para transformar alimentos saudáveis, mas que teriam o lixo como destino, em novos produtos alimentícios esteticamente aceitáveis (LUPTON, TURNER, 2017). Uma das pioneiras na área é a *startup* holandesa Upprinting Food, que transforma alimentos que iriam para o lixo em *snacks* (BANIS, 2018).

A tendência de aplicação da impressão de alimentos pode ser avaliada em pelo menos três níveis de produção: 1) A produção direta pelo indivíduo em seu domicílio; 2) A produção em pequena escala, em bares, restaurantes, padarias e instituições de assistência; 3) A produção industrial em larga escala.

A expansão desse setor, em cada um dos três níveis de produção, requer o desenvolvimento de novos métodos e materiais, cujas patentes podem proteger os novos negócios por pelo menos 20 anos da competição de mercado, tempo suficiente para consolidar novo padrão de consumo e cultivar a lealdade do consumidor à marca. Considerando a diversidade gastronômica do Brasil, as oportunidades de negócio são ainda maiores.

Um segmento que já vem sendo destacado como tendência de mercado para os próximos anos busca associar indulgência e saudabilidade (ITAL, 2010). Alimentos indulgentes são todos aqueles que, ao serem consumidos, proporcionam sensações de prazer, conforto e/ou bem-estar. Na grande maioria das vezes são alimentos de valor calórico elevado e baixo valor nutricional, como doces e chocolates. Como estão bastante associados à memória afetiva, são produtos que dificilmente deixarão de ser consumidos. Por outro lado, o perfil comportamental do consumidor está mudando, com uma busca constante por alimentos de maior qualidade nutricional.

Atualmente, as principais tecnologias para impressão tridimensional (3D) de alimentos são: Fused Deposition Modeling (FDM); Robocasting; Selective Laser Sintering or Melting (SLS/SLM); Stereo-Lithography (SLA); e Powder Bed Printing; os quais são aplicados em líquidos, pós ou pastas. Percebe-se assim a oportunidade disponível para o desenvolvimento de novas tecnologias de impressão e de novos materiais. Pode-se ter uma ideia da velocidade e importância dessa tendência por meio de Wegrzyn et al. (2012) que compilaram os principais protótipos, patentes e conceito de produtos até 2012. Naquele ano já apareciam “players” importantes, tais como o centro tecnológico holandês TNO, Cornell University (USA), MIT (USA), University of Exeter (UK), e Riddet Institute (NZ).

Diferentes conceitos estão sendo experimentados por empresas nascentes como a espanhola Natural Machines ([www.naturalmachines.com](http://www.naturalmachines.com)) e a Chocedge (<http://chocedge.com>), ou empresas estabelecidas que têm iniciado a exploração da aplicação das tecnologias em seus nichos específicos, tais como a Piq Chocolates (<https://piqchocolates.com>), 3D Systems (ChefJet pro/3D System - [www.3dsystems.com/es/culinary](http://www.3dsystems.com/es/culinary)) e a Schaal (<http://schaal-chocolatier.com>).

Portanto, a aplicação de tecnologias assistivas na produção de alimentos é uma tendência promissora onde os atores se movimentam rapidamente para estabelecer uma posição competitiva por meio de patentes em seus nichos de mercado. Com isso em mente, o trabalho estruturado visando ao desenvolvimento de uma formulação à base de aproveitamento de alimentos de origem

vegetal, na forma de farinhas, utilizando como suporte uma matriz de um alimento indulgente bastante apreciado: o chocolate. A formulação foi adaptada para uso em manufatura aditiva. Para tornar o produto final mais atraente, e personalizável foi desenvolvido um protótipo que permite a impressão da matriz alimentícia no formato desejado pelo consumidor.

## 2. Materiais e Métodos

O trabalho foi dividido em duas etapas. No desenvolvimento inicial da matriz alimentícia, foram utilizados manteiga de cacau e cacau em pó de boa qualidade, açúcares naturais e leite em pó. Para emular a redução do desperdício de vegetais, foram utilizadas farinhas de legumes/frutas desidratados. Todos os produtos foram adquiridos em estabelecimentos de comércio varejista da cidade de São Carlos – SP.

Os materiais foram combinados em diferentes proporções, tendo como referência formulações baseadas de chocolate amargo, ao leite ou branco. As temperaturas de fusão e temperagem (cristalização da manteiga de cacau) foram controladas durante todo o processo.

Os produtos foram avaliados em relação à aceitabilidade, com base em algumas características sensoriais: aparência, sabor e textura. O produto também foi avaliado em relação à estabilidade física e à capacidade de *blooming* (separação da fração oleosa na superfície do produto).

No desenvolvimento da manufatura aditiva, foi construído um protótipo de impressora 3D orientada em eixos cartesianos (X, Y e Z). A manufatura aditiva para chocolate segue os mesmos princípios das impressoras de filamentos, onde o tradicional extrusor foi substituído por um aplicador com avanços controlados, conforme a textura/viscosidade do chocolate. A placa de controle é baseada em Arduino ATmega e firmware (Marlin) *open source*. A programação específica para impressão da receita seguiu algumas especificações, como: (i) aquecimento/resfriamento da mesa; (ii) aquecimento do extrusor; (iii) resfriamento da impressão.

## 3. Resultados e Discussão

Dentre os alimentos indulgentes, o chocolate é, sem dúvida, um dos mais consumidos. Um chocolate de boa qualidade é constituído basicamente por licor de cacau (manteiga de cacau e cacau em pó), açúcar, leite (nos produtos da linha “ao leite”) e lecitina (em baixo teor). Os produtos com elevado teor de cacau (70% ou superior) são benéficos para a saúde, pois o cacau é uma matriz bastante complexa, rico em gordura poli-insaturada e compostos antioxidantes. No entanto, sensorialmente apresentam sabor muito forte, fazendo com que sejam preteridos pelas versões mais palatáveis, como as denominadas ao leite ou branco, sobretudo pelo público infantil. Essas últimas versões, por sua vez, apresentam teores elevados de açúcar e, conseqüentemente, altos valores calóricos e baixos valores nutricionais.

No sentido de tornar o produto mais saudável, vários estudos têm sido realizados para proporcionar a substituição do açúcar por sucedâneos naturais menos processados (AIDOO et. al., 2013). Na formulação aqui apresentada, além da substituição do açúcar, também foram inseridos na matriz (de chocolate) outros ingredientes provenientes de legumes e frutas, agregando mais saudabilidade e nutrientes, sem que o sabor do chocolate sofresse alteração. O uso de alimentos desidratados na forma de farinhas permite maximizar o aproveitamento dos alimentos, pois no seu processamento são utilizados os alimentos de baixo (ou sem) valor comercial (fora dos padrões de cor, formato ou tamanho), incluindo cascas e talos, partes que seriam descartadas se o alimento *in natura* fosse utilizado.

Diferentes formulações de chocolate estão sendo avaliadas sensorialmente em relação às características visuais, ao sabor e à textura. As preparações obtidas até o momento apresentaram boa aceitabilidade visual e de sabor, com produtos de brilho característico e sabor agradável. A matriz de chocolate branco tem se mostrado bastante versátil para se explorar cores pouco usuais com a adição dos novos materiais, mantendo o sabor tradicional, o que desperta muito interesse e a curiosidade do público consumidor de forma geral. O mesmo pode-se dizer de novos sabores que estão sendo testados.

Em relação aos aspectos sensoriais, um parâmetro que ainda não está satisfatório é a textura. As preparações têm apresentado uma textura “arenosa”, de “açúcar cristalizado” como descreveram alguns testadores. Essa sensação está diretamente relacionada ao tamanho das partículas na matriz, pois a língua humana tem um limiar de percepção de 20 µm. Novos testes estão sendo feitos no sentido de se obter matérias-primas com granulometria inferior a esse limite, de forma a se obter melhor palatabilidade nos testes. As formulações estão sendo avaliadas também quanto à estabilidade de prateleira. Até o momento os resultados têm sido bastante satisfatórios, inclusive em relação ao fenômeno de *blooming*, o qual foi registrado em poucas amostras.

Em relação ao processo de manufatura aditiva, o binômio da velocidade de impressão vs. diâmetro do bico aplicador é peça fundamental no desenvolvimento do produto. Se a velocidade é alta, perde-se definição quando se utiliza um bico de diâmetro maior. Se a velocidade é baixa, para se obter um produto com boa resolução, o processo fica muito lento. Quando essa tecnologia é aplicada a matrizes como o chocolate, uma terceira variável adquire um grau de importância ainda maior no processo: o controle de temperatura. Isso ocorre devido às características reológicas do chocolate, uma substância polimorfa que apresenta 6 estágios de cristalização. Se as temperaturas de temperagem e moldagem não estiverem, respectivamente, a 26–28°C e 32°C, a cristalização interfere significativamente na estrutura física do produto final, que pode até ficar liquefeito. Em caso de solidificação, pode haver ainda o *blooming* e a percepção da textura granulosa, comprometendo a aceitação pelo consumidor.

Os resultados obtidos indicam a importância do controle da temperatura. Embora as temperaturas no processo de temperagem e no momento de aplicação estejam ajustadas, há ainda uma grande dificuldade para a manutenção da temperatura ideal durante todo o processo de aplicação. Sem o controle refinado da temperatura, os resultados mostram que o chocolate torna-se gradualmente mais viscoso dentro do recipiente de aplicação, o que dificulta a sua saída, inclusive com entupimento do bico, além da perda de resolução da peça final.

#### 4. Conclusões

É possível aumentar o valor nutricional de alimentos indulgentes com a inserção de alimentos que seriam descartados por não terem o padrão estético aceito pelo ser humano.

A associação com a manufatura aditiva tem se mostrado uma boa solução tecnológica na minimização do desperdício de alimentos por viabilizar snacks com maior aceitabilidade e grande potencial de mercado.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP e à IBM-Brasil - Indústria, Máquinas e Serviços Ltda pelo apoio fornecido a este trabalho por meio do processo 17/19350-2.

#### Referências

- AIDOO, R. P.; DEPYPERE, F.; AFOAKWA, E. O.; DEWETTINCK, K. Industrial manufacture of sugar-free chocolates – Applicability of alternative sweeteners and carbohydrate polymers as raw materials in product development. *Trends in Food Science and Technology*, Amsterdam, v. 32, n. 2, p. 84-96, 2013
- BANIS, D. These Two Dutch Students Create 3D-Printed Snacks From Food Waste. *Forbes*. 2018. Disponível em: <https://www.forbes.com/sites/davidebanis/2018/12/24/these-two-dutch-students-create-3d-printed-snacks-from-food-waste>. Acesso em outubro/2019.
- CAPUCHO, J. Toneladas de frutos e legumes vão para o lixo porque são feios. *Diário de Notícias*. Lisboa, 2016. Disponível em: <https://www.dn.pt/sociedade/toneladas-de-frutos-e-legumes-vao-para-o-lixo-porque-sao-feios-5290493.html>. Acesso em outubro/2019.
- ITAL – INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. *Brasil Food Trends 2020*. FIESP/ITAL. São Paulo, 173 p., 2010.
- LIPTON, J.I.; CUTLER, M.; TIGL, F.; COHEN, D.; LIPSON, H. Additive manufacturing for the

- food industry. Trends in Food Science & Technology, v. 43, p.114-123. 2015
- LUPTON, D.; TURNER, B. Both fascinating and disturbing. Consumer responses to 3D food printing and implications for food activism. In: Digital Food Activism, SCHNEIDER, T.; ELI, K.; DOLAN, C.; ULJASZEK, S. (Ed.) 1st. Ed. Taylor & Francis Group, Londres, 17 p., 2017
- PORPINO, G.; LOURENÇO, C. E.; ARAÚJO, C.M.; BASTOS, A. Intercâmbio Brasil – União Europeia sobre desperdício de alimentos. Relatório final de pesquisa. Brasília: Diálogos Setoriais União Europeia – Brasil, 77 p., 2018.
- WEGRZYN, T.F.; GOLDING M.; ARCHER, R.H. Food Layered manufacture: a new process for constructing solid foods. Trends in Food Science & Technology, v.27, p.66-72. 2012.

## MELHORIA DA FERTILIDADE DO SOLO E OTIMIZAÇÃO DO USO DE INSUMOS EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA-FLORESTA COM FERRAMENTAS DE AGRICULTURA DE PRECISÃO

Alberto C. de Campos Bernardi<sup>1,\*</sup>; Nicolle Laurenti<sup>2</sup>; Giovana Maranhão Bettiol<sup>3</sup>; Patrícia P. Anção de Oliveira<sup>1</sup>; Teresa Cristina Alves<sup>1</sup>; André de Faria Pedroso<sup>1</sup>; Sérgio Novita Esteves<sup>1</sup>, José Ricardo Macedo Pezzopane<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Engenharia Agrônômica, UNICEP, São Carlos, SP

<sup>3</sup> Embrapa Cerrados, Planaltina – DF

\* Autor correspondente, e-mail: alberto.bernardi@embrapa.br

**Resumo:** O conhecimento da variabilidade espacial das propriedades do solo é útil para o uso racional dos insumos, como na aplicação localizada de calcário e fertilizantes nos sistemas de integração lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF). A agricultura de precisão (PA) é a ferramenta para melhorar a eficiência do uso destes insumos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a aplicação calagem e de fertilizantes a taxas variáveis em um sistema ILPF. O estudo de campo foi realizado em uma área de 30 ha da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos, SP. As amostras de solo foram coletadas a 0-0,2 m de profundidade, e cada amostra representou um piquete. A variabilidade espacial das propriedades do solo e das necessidades específicas de calcário e fertilizantes foram modeladas. Os resultados mostraram que o SIG é ferramenta útil para revelar a variabilidade espacial do solo e estratégias de manejo de solo. As análises espaciais das necessidades e necessidades das culturas podem fornecer ferramentas de gestão para evitar potenciais problemas ambientais causados por nutrientes em desequilíbrio. A tecnologia da aplicação de insumos à taxa variável pode ser utilizada como ferramenta de correção e adubação do solo levando à maior homogeneidade dos atributos químicos do solo.

**Palavras-chave:** geoprocessamento, taxa variável, sistemas integrados, calagem, adubação fosfática.

### **SOIL FERTILITY IMPROVEMENT AND INPUTS USE OPTIMIZATION OF A CROP-LIVESTOCK-FOREST INTEGRATION SYSTEM WITH PRECISION AGRICULTURE TOOLS**

**Abstract:** Knowledge on spatial variability of soil properties is useful for the rational use of inputs, as in the site specific application of lime and fertilizer in the crop-livestock-forest integrated systems (CLFIS). Precision agriculture (PA) is the tool to improve the efficiency of use of these issues. The objective of this research was to evaluate liming and fertilizer variable rate application in CLFIS. The field study was carried out in a 30-ha area at Embrapa Pecuária Sudeste in São Carlos, SP, Brazil. Soil samples were collected at 0-0.2 m depth, and each sample represented a paddock. The spatial variability of soil properties and site-specific liming and fertilizer need were modeled by inverse distance weighting (IDW) technique. The results showed that GIS were useful tools for revealing soil spatial variability and supporting management strategies. Soil nutrients were used to classify the soil spatial distribution map and design site-specific lime and fertilizer application zones. Spatial analyses of crop needs and requirement can provide management tools for avoiding potential environmental problems, caused by unbalanced nutrient supplies. The VRT of inputs can be used as a tool for correction and fertilization of the soil leading to greater homogeneity of soil chemical attributes.

**Keywords:** geoprocessing, variable rate, integrated systems, lime, phosphorus fertilizer.



## 1. Introdução

Os Sistemas de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF) têm sido utilizados como uma estratégia de intensificação agrícola sustentável que integra atividades anuais de cultivo, árvores e pecuária na mesma área e na mesma safra (BALBINO et al., 2011). Entre os fatores controláveis que determinam a produtividade e a qualidade das culturas, está o manejo da fertilidade do solo. Nos solos intemperizados, de baixa fertilidade e ácidos da região tropical brasileira (BERNARDI et al. 2012) o fornecimento balanceado de nutrientes é importante para obter-se altos rendimentos e é essencial para manter alta qualidade e rendimentos rentáveis no ILPF. A análise química é essencial para avaliar a fertilidade do solo. Pois, com a interpretação dos resultados é possível realizar manejo químico do solo de maneira eficiente e econômica (RAIJ, 1991). Além disso, o balanço de nutrientes no sistema solo-planta pode ser considerado um indicador da sustentabilidade do uso agrícola do solo. No entanto, a gestão da fertilidade do solo, sem levar em conta a variação espacial pode afetar diretamente a produtividade e a qualidade ambiental (BERNARDI et al., 2016).

Uma abordagem de agricultura de precisão (AP) baseada em zonas de manejo parte do pressuposto de que as variações de topografia, classe de solo, nível de solo, água e nutrientes podem ser mapeadas e as diferentes zonas delineadas. Assim, cada zona torna-se então uma unidade de gestão na qual são implementadas as aplicações de taxa variável baseadas em sistemas globais de navegação por satélite (GNSS) para alcançar máximos rendimento, qualidade e rentabilidade econômica. Devido às características do pastejo rotativo, em que a área de pastagem pode ser dividida em sub-pastagens, denominadas "piquetes", esta subdivisão torna-se uma unidade de manejo (BERNARDI et al., 2017). O uso de ferramentas de AP, como a amostragem de solo georreferenciada, estabelecimento de zonas de manejo e aplicação de insumos a taxa variável podem ser úteis para a gestão de sistemas ILPF. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a aplicação calagem e de fertilizantes a taxas variáveis em um sistema ILPF.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Caracterização da área de estudo

O estudo foi realizado em área experimental (Figura 1) da Embrapa Pecuária Sudeste em São Carlos, Brasil (21°57'S, 47°50'W, 860 m alt) em Latossolo vermelho-amarelo (Haplortox). O clima é tropical, com 1502 mm de precipitação anual e temperatura média mínima e temperatura máxima de 16,3° C (julho) e 23° C (fevereiro), respectivamente. O sistema ILPF totaliza 30 ha e inclui diferentes combinações: i) pastagem intensiva (INT) de capim Piatã (*Urochloa brizantha*); ii) Integração lavoura-pecuária (ILP), em que um terço da área é renovada anualmente plantando milho consorciado com capim Piatã; iii) integração floresta-pecuária-floresta (ILPF) plantado com *Eucalyptus urograndis* (GG100) em fileiras simples com espaçamento de 15 m e distância de 2 m entre árvores; iv) integração de pastagem-floresta (IPF), com capim Piatã e eucalipto; v) sistema extensivo (EXT) de capim braquiária (*Urochloa decumbens*). As pastagens são manejadas em sistema rotacionado com 6 dias de pastejo e 35 dias de repouso em épocas de chuvas e secas. Os piquetes são divididos com cercas elétricas em 6 subdivisões de 0,5 ha cada com 2 repetições.

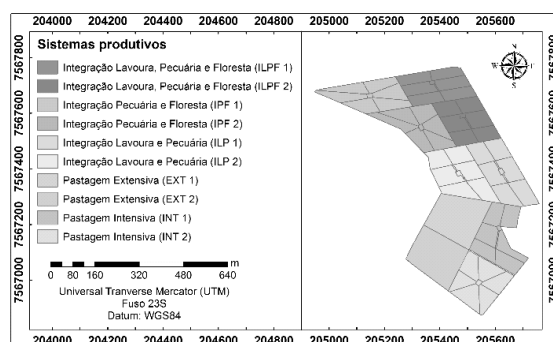


Figura 1. Localização da área de estudo, o sistema ILPF da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos – SP, Brasil.

## 2.2. Amostragem do solo e recomendação de insumos

A estratégia de amostragem do solo foi baseada na coleta de 6 sub-amostras a 0-0,2 m de profundidade em cada piquete de 0,5 ha nas safras de 2015/6 a 2018/9. As propriedades químicas foram determinadas como segue: as medições de pH do solo foram feitas em  $\text{CaCl}_2$ , o carbono orgânico foi determinado por combustão úmida e o P disponível foi avaliado pelo método da resina. Determinou-se a acidez potencial (H+Al) pelo método do pH SMP. Também foram medidos  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Al}^{3+}$  trocáveis. A capacidade de troca de cátions (CTC) e a saturação de base (% V) foram calculadas. O teor de argila foi determinado pelo método do densímetro.

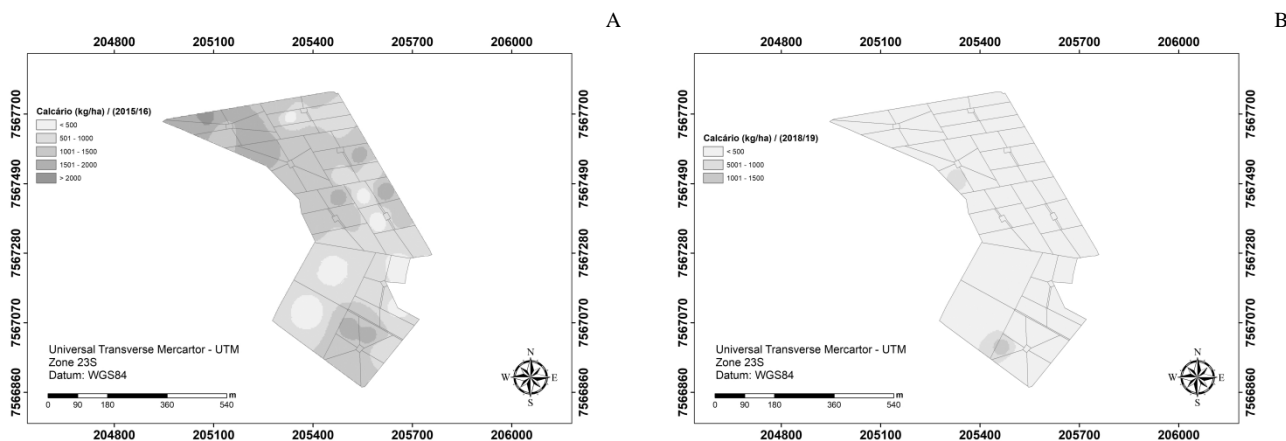
A recomendação de calcário e fertilizantes foi calculada com base em Raij et al. (1996) e Bernardi et al. (2012), tendo sido utilizados os critérios: calagem para aumentar a saturação de base para 70% para o milho e 60% para as pastagens, adubação com o P (superfosfato simples, 18%  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) para aumentar o solo P para  $15 \text{ mg dm}^{-3}$  e fertilizante K (KCl 60%  $\text{K}_2\text{O}$ ) para elevar a  $\text{K}^+$  a 3% da CTC do solo. Cada piquete foi considerado uma "unidade de manejo", e a recomendação de calcário e fertilizantes foi calculada considerando a área de 0,5 ha, conforme descrito em Bernardi et al. (2017). Anualmente realizou-se a correção do solo e adubação seguindo os resultados obtidos e critérios estabelecidos.

## 2.3. Análise de dados

Os parâmetros estatísticos foram estimados para todas as variáveis (Tabela 1) em ambas safras. Foi utilizada a interpolação pela ponderação do inverso da distância (IDW) para obtenção dos mapas de contorno (Figura 2) das necessidades de calcário e superfosfato simples (SSP) com o software ArcGIS 10.1 (ESRI, 2009).

Tabela 1. Estatística descritiva de atributos do solo e recomendações de calcário e fertilizante fosfatada de um ILPF em São Carlos – SP, Brasil.

Parâmetros Estatísticos	Argila	pH		P		CTC		V		Calagem		SSP	
	g/kg	$\text{CaCl}_2$	$\text{CaCl}_2$	$\text{mg/dm}^3$	$\text{mg/dm}^3$	$\text{mmol}_c/\text{dm}^3$	$\text{mmol}_c/\text{dm}^3$	%	%	kg/ha			
	-	2015/6	2018/9	2015/6	2018/9	2015/6	2018/9	2015/6	2018/9	2015/6	2018/9	2015/6	2018/9
$\mu$	340	4,8	5,4	8,1	13,2	58,3	71,2	45,6	65,2	1.090,0	549,0	120,0	234,0
$\sigma$	33,4	0,2	0,3	5,0	6,9	6,9	9,7	8,7	8,8	660,0	243,2	295,5	186,9
Mínimo	275	4,3	4,9	1,0	6,0	45,0	53,0	28,0	47,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Máximo	414	5,4	6,0	26,3	34,0	77,0	92,0	66,0	81,0	2.500,0	950,0	1.500,0	500,0
CV (%)	9,8	3,9	4,7	61,0	52,4	11,8	13,6	19,0	13,5	60,6	44,3	246,3	79,9
Curtose	-0,66	2,13	-0,10	3,86	2,01	0,05	-0,58	-0,16	-1,09	-0,76	0,27	10,05	-1,54
Assimetria	0,05	0,59	0,20	1,73	1,56	0,26	0,35	0,31	-0,04	-0,12	-0,81	2,98	-0,15
N	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50



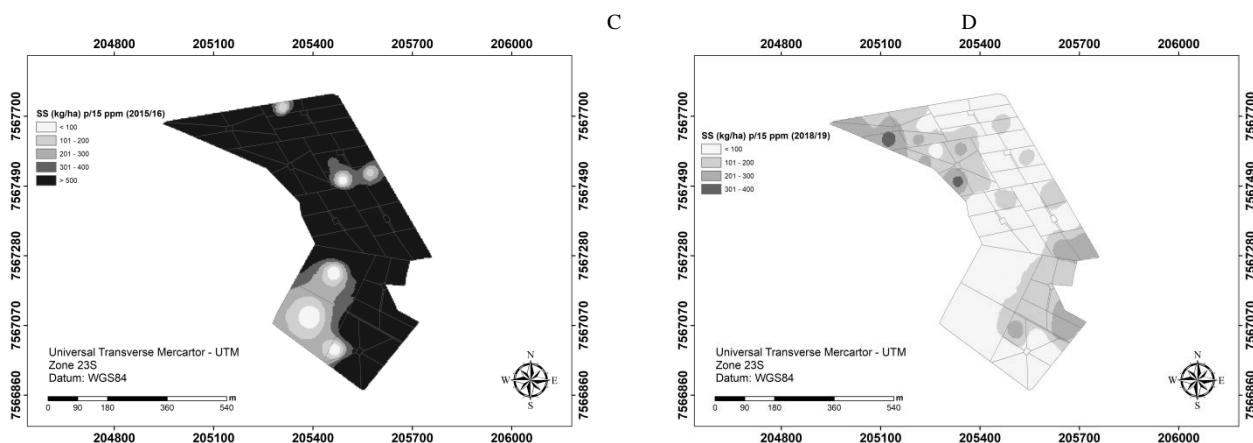


Figura 2. Mapas da recomendação de calagem (A, B), e superfosfato simples – SSP (C, D) nas safras 2015/16 e 2018/19 em um ILPF.

### 3. Resultados e Discussão

Os parâmetros estatísticos de todas as variáveis analisadas são apresentados na Tabela 1. Estes parâmetros estatísticos como média, variância, coeficiente de variação, valor mínimo, valor máximo, assimetria e curtose foram obtidos para verificar a existência de uma tendência central e dispersão de dados. De acordo com Carvalho et al. (2000), em um conjunto de dados que se aproxima da distribuição normal, os valores para os coeficientes de assimetria e curtose se aproximarão de zero. Estes valores, juntamente com os outros parâmetros estatísticos clássicos, são úteis para avaliar a magnitude da dispersão de dados em torno de um valor de tendência central. Para a maioria das variáveis estudadas, houve distribuição normal, conforme indicado pelos coeficientes de assimetria e curtose próximos de zero, com exceção de pH na 1ª safra e P em ambas safras.

O pH do solo e a argila representaram propriedades do solo com baixa variabilidade com um coeficiente de variação abaixo de 10%. A CTC e V% representaram propriedades do solo com variabilidade média (CV 10 a 30%). O teor de P foi a propriedade do solo com maior variabilidade. De acordo com Kravchenko (2003), o nível de variabilidade dos dados é importante na gestão da AP, uma vez que as propriedades do solo com alta variabilidade são potencialmente melhores candidatas a serem administradas numa base específica de sítios do que as propriedades do solo mais uniformemente distribuídas. Por outro lado, o mapeamento das propriedades do solo com maior variabilidade pode ser menos preciso do que o das propriedades do solo com menor variabilidade. As tendências na variação dos atributos do solo obtidas neste estudo são consistentes com as observadas por Bernardi et al. (2016 e 2017) para os mesmos parâmetros do solo.

Os resultados da análise química de solo determinam o estoque de nutrientes no solo e os limitantes químicos no momento anterior ao plantio, possibilitando a recomendação de correção e adubação, bem como monitorar e avaliar periodicamente o balanço dos nutrientes no solo. Comparando-se os resultados obtidos nas 1ª. e 2ª. safras indicaram que houve uma melhoria geral dos parâmetros analisados, e indicando que está havendo uma melhoria da fertilidade solo.

Os mapas da Figura 2 comprovam esta melhoria da fertilidade pois indicam que no sistema ILPF com pastagens de capim Piatã, em rotação como milho e com árvores de eucalipto, utilizando as ferramentas de AP, conforme descrito por Bernardi et al. (2015, 2016, 2017), foi possível reduzir em 89 e 57% as quantidades totais de calcário e supersimples. As doses de totais aplicadas em 30ha variaram de 54,5 e 27,5 t/ha aplicadas em 2015, para 6,0 e 11,7 t/ha aplicados em 2018, respectivamente.

### 4. Conclusões

Os resultados mostraram que a geoestatística e o SIG são ferramentas úteis para revelar a variabilidade espacial do solo e estratégias de manejo de solo. As análises espaciais das

necessidades e necessidades das culturas podem fornecer ferramentas de gestão para evitar potenciais problemas ambientais causados por nutrientes em desequilíbrio. A tecnologia da aplicação de insumos à taxa variável pode ser utilizada como ferramenta de correção e adubação do solo levando à maior homogeneidade dos atributos químicos do solo.

### Agradecimentos

Ao International Potash Institute – IPI e Associação Rede ILPF, pelo apoio financeiro ao projeto.

### Referências

- BERNARDI, A. C. C.; BETTIOL, G. M.; FERREIRA, R. P.; SANTOS, K. E. L.; RABELLO, L. M.; INAMASU, R. Y. Spatial variability em São Carlos – SP, Brasil of soil properties and yield of a grazed alfalfa pasture in Brazil. **Precision agriculture**, v. 17, p. 737-752, 2016.
- BERNARDI, A. C. C.; BETTIOL, G. M.; GREGO, C. R.; ANDRADE, R. G.; RABELLO, L. M.; INAMASU, R. Y. Ferramentas de agricultura de precisão como auxílio ao manejo da fertilidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília v. 32, n. 1/2, p. 205-221, 2015.
- BERNARDI, A. C. C.; BETTIOL, G. M.; MAZZUCO, G. G.; ESTEVES, S. N.; OLIVEIRA, P. P. A.; PEZZOPANE, J. R. M. Spatial variability of soil fertility in an integrated crop livestock forest system. **Advances in Animal Biosciences**, v. 8, n. 2, p. 590-593, 2017.
- BERNARDI, A.C.C.; OLIVEIRA, P.P.A.; PRIMAVESI, O. Soil fertility of tropical intensively managed forage system for grazing cattle in Brazil. In: WHALEN, J.K. **Soil fertility improvement and integrated nutrient management** - a global perspective. Rijeka, Croatia: Intechopen, 2012. p. 37-56.
- CARVALHO, J. R. P.; SILVEIRA, P. M.; VIEIRA, S. R. Geoestatística na determinação da variabilidade espacial de características químicas do solo sob diferentes preparos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, p.1151-1159, 2002.
- RAIJ, B. V. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Agronômica Ceres; Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1991. 343p.
- RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: Instituto Agronomico/IAC, 1996. 285p. (IAC. Boletim Técnico, 100).

**MÉTODO BASEADO EM GRAFOS PARA SEGMENTAÇÃO DE SEMENTES  
OLEAGINOSAS EM IMAGENS TOMOGRÁFICAS DE ALTA RESOLUÇÃO**André R. Brito<sup>1,2,\*</sup>, Gabriel M. Alves<sup>1,2</sup>, Paulo E. Cruvinel<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP<sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Rodovia Washington Luís Km 310, 13565-905, São Carlos, SP\* Autor correspondente, e-mail: [andrerb\\_1992@hotmail.com](mailto:andrerb_1992@hotmail.com)

**Resumo:** Neste trabalho, é apresentado um método de segmentação de imagens tomográficas de alta resolução que se baseia na Teoria de Grafos e que leva em consideração a relação entre os pixels da imagem para realizar essa tarefa. O método foi preparado para segmentar imagens de sementes de espécies oleaginosas. Os resultados obtidos indicam a qualidade do método, o qual supera em geral o método de segmentação baseado em Otsu.

**Palavras-chave:** imagens tomográficas, segmentação de imagem, teoria dos grafos, sementes de oleaginosas.

**GRAPH BASED METHOD FOR OILSEED SEGMENTATION IN HIGH RESOLUTION  
TOMOGRAPHIC IMAGES**

**Abstract:** In this paper, a high-resolution tomographic image segmentation method is presented which includes Graph Theory and takes into account the relationship between image pixels to perform a segmentation task. The method was submitted to a base of high-resolution tomographic images, Results of oleaginous seeds. The results obtained generally determine that the method surpasses the traditional methods of segmentation based on Otsu.

**Keywords:** tomographic images, image segmentation, graph theory, oilseeds.

**1. Introdução**

O Brasil é o país que tem um grande potencial para produção de sementes oleaginosas como matéria prima principal no processo do biodiesel. Tendo em vista sua grande diversidade em espécies de sementes cultivadas em todas as suas regiões, tal aspecto se constitui como uma grande oportunidade de pesquisa para a área da visão computacional e reconhecimento de padrões. Neste contexto, o uso de técnicas de visão computacional, aplicadas às imagens de sementes oleaginosas, pode auxiliar no processo de decisão envolvido na seleção das espécies e suas qualidades em função da morfologia para a produção do biodiesel.

Uma das principais etapas da área de visão computacional e o reconhecimento de padrões, o qual necessita da etapa de segmentação dos objetos que compõem as imagens. A segmentação de imagens consiste na tarefa de dividir uma imagem em diferentes regiões, onde cada região possui propriedades específicas que podem incluir cor, textura, forma, entre outras características (FU; MUI, 1981; GONZALEZ; WOODS, 2002).

Neste trabalho é apresentado um método de segmentação adaptado para avaliação de sementes oleaginosas o qual recebe uma imagem tomográfica de alta resolução que é submetida a um filtro visando à preservação das bordas ao mesmo tempo em que suaviza as regiões internas dos objetos presentes na imagem. Na sequência um grafo é construído a partir das informações dos pixels e da relação de vizinhança entre eles. Finalmente, após a construção, realiza-se o corte em grafos a fim de identificar as sementes que estão presentes na imagem.

## 2. Materiais e Métodos

As imagens tomográficas de sementes oleaginosas foram obtidas utilizando um tomógrafo de alta resolução instalado na Embrapa Instrumentação (SkyScan 1172). Sementes das culturas de Girassol e Pinhão-manso foram ensaiadas considerando resolução espacial de 4000x4000 *pixels*, conforme ilustrado na Figura 1.

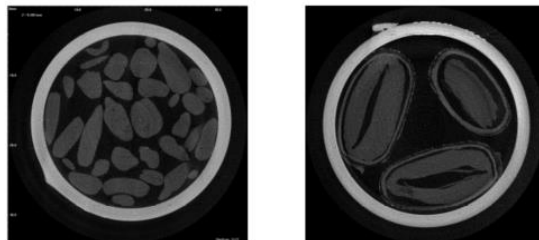


Figura 1. Imagens tomográficas de sementes oleaginosas. (a) Semente de girassol. (b) Semente de Pinhão-manso.

A métrica para a avaliação da qualidade das imagens foi baseada no uso do indicador *Structural Similarity Index* (SSIM), o qual viabilizou comparar o desempenho do método proposto com o tradicional método de segmentação por Otsu (OTSU,1979).

### 2.1. Sementes oleaginosas

As sementes oleaginosas promovem a formação de plantas que contém fontes importantes de proteína, fibra e de óleo vegetal. A extração de óleo vegetal é utilizada no processo para produção do biodiesel (BELTRÃO-OLIVEIRA,2008).

A semente de Girassol é considerada uma das principais sementes oleaginosas para a produção de óleo vegetal. Suas propriedades são ricas em nutrientes como fonte de proteínas, fibras e vitamina E. A semente de Pinhão Manso tem seu destaque na sociedade por ser adaptável em ambientes diversos e viabilizar o biodiesel a um custo menor (DE ARRUDA et al., 2004).

### 2.2. Tomografia de raios-X de alta resolução

A tomografia de raios-X de alta resolução é uma técnica não invasiva, que possibilita a análise e visualização detalhada de uma imagem tridimensional, ou seja, estruturas internas do corpo em estudo. Neste trabalho, essa técnica foi utilizada incluindo a transformação das intensidades dos *pixels* RGB para os níveis de escala de cinza, assim como transformando uma imagem tridimensional em uma imagem bidimensional de 8 *bits*. Os valores de intensidade dos *pixels* de uma imagem em nível de cinza podem variar do valor 0 (cor preta) ao valor 255 (cor branca). Também houve o uso de um filtro de Difusão Anisotrópica, visando a preservação de borda e suavização que ocorre entre regiões internas das imagens.

### 2.3. Corte em Grafo

Neste trabalho foi considerada a existência de duas regiões (primeiro plano e fundo), sendo que as mesmas foram mapeadas por um grafo  $G = (V, E)$ , onde cada vértice  $v$  do grafo passou a representar um *pixel* da imagem. Com isso, foi possível considerar  $v \in V$ . Já as arestas, que ligam cada vértice  $v$  aos seus vértices (*pixels*) vizinhos, foram representadas na forma  $(v, u) \in E$ . Contudo, depois de formado o grafo da imagem a ser segmentada, foram inseridos dois vértices terminais chamados de  $s$  (*source*) e  $t$  (*sink*). O vértice  $s$  refere-se ao primeiro plano da imagem, contendo características da região do objeto que se deseja segmentar. Através do vértice  $s$ , são ligados todos os outros vértices contidos na imagem. O vértice  $t$  refere-se ao segundo plano da imagem, contendo características da região referente ao fundo da imagem. Através do vértice  $t$ , podem ser recebidas todas as ligações dos vértices do grafo.

A representação dos vértices terminais  $s$  e  $t$  foram empiricamente definidas através de uma

marcação de um *pixel* central referente ao objeto (vértice  $s$ ) e outro referente ao fundo (vértice  $t$ ), dentro de uma região com dimensão  $5 \times 5$ . Em seguida, os valores de  $s$  e  $t$  são calculados com base na média de cada região definida. A Figura 2 ilustra um grafo, onde foi realizado a ligação das arestas com seus vértices e seus respectivos vértices terminais  $s$  (*source*) e  $t$  (*sink*).

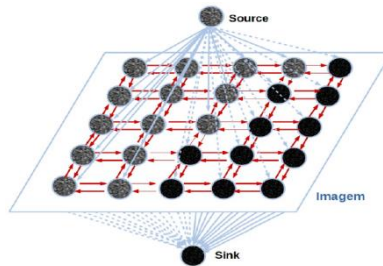


Figura 2. Representação em grafos de uma imagem.

A capacidade (custo) atribuída a cada aresta do grafo, é representada pela similaridade entre dois vértices que acontece a ligação, neste caso, os quatro vizinhos adjacentes  $c_N$ ,  $c_S$ ,  $c_E$  e  $c_W$ . Lembrando que os vértices  $(v, u) \in E$  e  $(u, v) \in E$ , tem o mesmo valor. Sendo assim, esse cálculo é realizado com base na Eq. 1, onde se buscou os vértices similares ao objeto.

$$peso = 255 - \left| \sum_{i=0}^M \sum_{j=0}^N img1[i][j] - img2[i \pm 1][j \pm 1] \right| \quad (1)$$

onde  $M$  e  $N$  é a dimensão da imagem,  $255$  é o valor de maior intensidade,  $img1$  e  $img2$  representam a diferença entre dois *pixels*. Para calcular a capacidade das ligações do vértice  $s$  aos vértices da imagem e os vértices da imagem para o vértice  $t$ , utilizando a função de verossimilhança expressa pelas Eq. 2 e a Eq. 3, na forma:

$$cap_s = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_s^2}} e^{-\frac{1}{2\sigma_s^2}(I_p - \mu_s)^2} \quad (2)$$

$$cap_t = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_t^2}} e^{-\frac{1}{2\sigma_t^2}(I_p - \mu_t)^2} \quad (3)$$

A partir da geração do grafo de uma imagem, com seus respectivos custos de cada aresta, é possível encontrar o corte mínimo do grafo. A Figura 3 ilustra o resultado do corte mínimo que foi obtido no grafo residual.

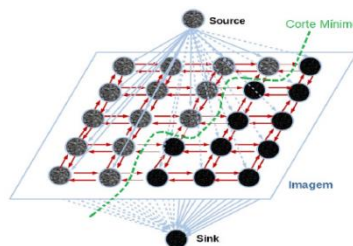


Figura 3. Corte mínimo realizado no grafo residual.

Após aplicação do algoritmo de Edmonds-Karp para encontrar o corte mínimo do grafo  $G$  por meio

de seu grafo residual  $G_f$ , aplica-se um algoritmo de busca a partir do vértice  $s$ , para obter os nós do grafo (*pixels* da imagem) os quais são ligados ao vértice  $s$ , os vértices pertencentes a região do objeto. Já os vértices que não forem alcançados pela busca, automaticamente serão associados ao nó terminal  $t$ , formando a região do fundo da imagem.

### 3. Resultados e Discussão

O resultado obtido pelo método proposto pode ser visualizado e comparado com método de Otsu, conforme ilustram as Tabela 1 e 2.

Tabela 1. Imagens tomográficas referente a cultura da semente de girassol

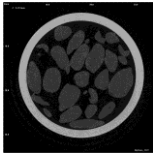
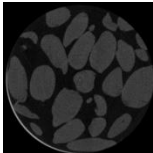


Imagem semente girassol	Região de interesse após o filtro	Resultado aplicando Grafo	Resultado aplicando Otsu
			

Tabela 2. Imagens tomográficas referente a cultura da semente de pinhão manso.

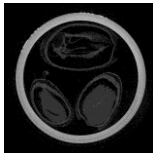
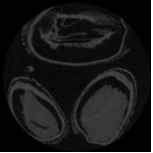


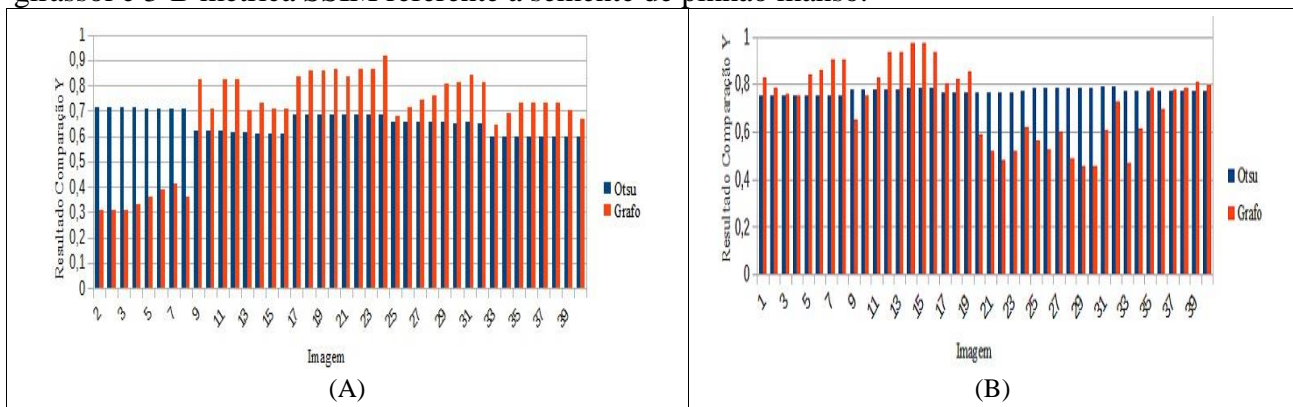
Imagem semente Pinhão Manso	Região de interesse após o filtro	Resultado aplicando Grafo	Resultado aplicando Otsu
			

Tabela 3. Resultados da avaliação como a métrica SSIM, 3-A métrica SSIM referente a semente de girassol e 3-B métrica SSIM referente a semente de pinhão manso.



Analisando a Tabela 3, percebe-se a partir da 9ª imagem da Tabela 3-A, que houve uma melhora no resultado na estrutura da imagem segmentada em relação a sua imagem de origem, por meio do método de segmentação em grafos. Essa melhora se deu em função do método em grafos buscar sempre explorar informações contextuais, eliminando os pixels isolados que não fazem parte do objeto, assim obtendo maior precisão no processo de segmentação. Em relação à Tabela 3-B, percebeu-se que método de grafos, em alguns casos, possibilitou obter valor SSIM próximo a 1, indicando alta similaridade com a imagem segmentada de referência.



#### 4. Conclusões

Neste artigo, uma nova abordagem baseada em grafo para segmentação de imagens CT de sementes oleaginosas baseada em informações contextuais foi apresentada. O método em grafo apresenta ênfase especial à informação de vizinhança para classificar corretamente os objetos sementes de uma imagem, de modo que apresenta maior precisão na segmentação quando comparado com métodos tradicionais. Os resultados obtidos com o uso da métrica SSIM mostram que o método proposto supera a segmentação por Otsu com uma taxa de 55% em relação às sementes de girassol e 80% em relação às sementes de pinhão manso. Porém, devido alta complexidade e tempo de processamento, o método em grafos em certas aplicações pode apresentar menor desempenho em relação ao tempo de processamento, o que deve ser observado como parte do problema de segmentação a ser aplicado.

#### Agradecimentos

Ao CNPq (Processo 132077/2018-3) e a CAPES pelo suporte financeiro.

#### Referências

- BELTRÃO, NE DE M.; DE OLIVEIRA, M. I. P. Oleaginosas e seus óleos: vantagens e desvantagens para produção de biodiesel. Embrapa Algodão-Documents (INFOTECA-E), 2008.
- DE ARRUDA et al. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curca* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. Revista brasileira de oleaginosas e fibrosas, v. 8, n. 1, 2004.
- FU, KING-SUN; MUI, J. K. A survey on image segmentation. Pattern recognition, v. 13, n. 1, p. 3-16, 1981.
- GONZALEZ, RAFAEL C; WOODS, RICHARD E.. Digital image processing. 2002.
- OTSU, N.. A threshold selection method from gray-level histograms. IEEE transactions on systems, man, and cybernetics, v. 9, n. 1, p. 62-66, 1979.

**METODOLOGIA PARA ESTIMAR ALTURA DE ÁRVORES COM BASE EM IMAGENS  
AÉREAS CAPTURADAS POR DRONE**

J. O. A. Bueno<sup>1,\*</sup>, V. Bourscheidt<sup>2</sup>, J.R.M. Pezzopane<sup>3</sup>, A. C. C. Bernardi<sup>3</sup>, S. Crestana<sup>4</sup>

<sup>1</sup> *Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, Av. Trabalhador São Carlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP*

<sup>2</sup> *Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, Km 235, 13565-905, São Carlos, SP*

<sup>3</sup> *Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luiz, Km 234, 13560-970, São Carlos, SP*

<sup>4</sup> *Embrapa Instrumentação, R. 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: tvnalmeida@gmail.com*

**Resumo:** Com os avanços tecnológicos nos últimos tempos surgem novas oportunidades de se obter dados de sensoriamento remoto utilizando diversos equipamentos, como as fotografias aéreas obtidas utilizando câmeras digitais acopladas às aeronaves remotamente pilotadas, popularmente conhecidas como drones. Utilizar fotografias aéreas de pequeno formato é uma das técnicas de sensoriamento remoto que torna possível caracterizar florestas, mapear danos causados por incêndios, fenologia e contagem de copas. Sendo assim, tendo em vista o fato de obter dados de forma rápida, precisa e que possam ser reproduzidos de maneira eficiente, este estudo teve o objetivo de estimar a altura de árvores com base em modelos digitais de terreno e de superfície, utilizando imagens aéreas capturadas por drone em um sistema integrado de produção agropecuária. Os resultados obtidos por meio do Modelo Digital de Altura gerado permitiram estimar a altura das árvores com resultados de até 37 metros.

**Palavras-chave:** modelo digital de altura, sensoriamento remoto, geoprocessamento, SIG, sistema integrado.

***METHODOLOGY FOR ESTIMATE TREE HEIGHT BASED IN IMAGES CAPTURED BY DRONE***

**Abstract:** With technological advances in recent times there are new opportunities to obtain remote sensing data using various equipment, as the aerial photographs taken using digital cameras coupled with remotely piloted aircraft, popularly known as drones. Using small-format aerial photography is one of the remote sensing techniques that makes it possible to characterize forests, map fire damage, phenology and crown counting. Thus, considering that data can be obtained quickly, accurately and that can be efficiently reproduced, this study aimed to estimate tree height based on digital terrain and surface models using aerial images captured by drone in as integrated agricultural system. The results obtained through the generated Digital Height Model allowed to estimate tree heights with results up to 37 meters.

**Keywords:** digital height model, remote sensing, geoprocessing, GIS, integrated system.

**1. Introdução**

As aeronaves sem piloto foram produzidas inicialmente para uso militar com o propósito de executar missões sem que houvesse risco de morte da tripulação a bordo. Posteriormente, começaram a ser produzidos vários modelos de Aeronave Remotamente Pilotada (ARP) em todo o mundo, devido a redução do tamanho dos componentes eletrônicos ocorridos nas últimas décadas, fato que contribuiu para o aumento do número de projetos que envolvem essa tecnologia (SLOMPO, 2013).

O termo ARP também possui outras definições. Popularmente são conhecidas como drone, principalmente nos Estados Unidos, quando se trata de uma aeronave que tem um envolvimento

mais acentuado da robótica e possui uma autonomia maior na operação (LONGHITANO, 2010).

Conforme já descrito, essa tecnologia foi utilizada inicialmente para uso militar. No entanto, a sua utilização está se tornando cada vez mais constante em aplicações comerciais e governamentais locais, visto que possui um enorme potencial de monitoramento e inspeção (GIUFFRIDA, 2015).

Quando comparado com as técnicas de sensoriamento remoto obtidas via satélite, aérea e/ou métodos de aquisição de imagens de alta resolução, o uso dessas aeronaves vem surgindo como uma alternativa mais viável (GRAÇA, 2017). Utilizar fotografias aéreas de pequeno formato é uma das técnicas de sensoriamento remoto que torna possível caracterizar florestas, mapear danos causados por incêndios, fenologia e contagem de copas (DISPERATTI et al., 2007).

Com o sensoriamento remoto é possível se obter novas informações, que se assemelham ao levantamento realizado diretamente no campo, entretanto, tem-se a possibilidade de realizar a amostragem do ambiente de uma maneira mais rápida (SILVA, 2016).

Sendo assim, tendo em vista o fato de obter dados de forma rápida, precisa e que possam ser reproduzidos de maneira eficiente, este estudo teve o objetivo de estimar a altura de árvores com base em modelos digitais de terreno e de superfície, utilizando imagens aéreas capturadas por drone em um sistema integrado de produção agropecuária.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Área de estudo

O estudo foi realizado na Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP, em área de sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) (figura1). A área tem 12 ha., divididos em 24 piquetes com 0.5 ha. cada, plantado com *Eucalyptus urograndis* (GG100) em fileiras simples com espaçamento de 15 m e distância de 4 m entre árvores e sistemas de pastagens de capim-piatã.

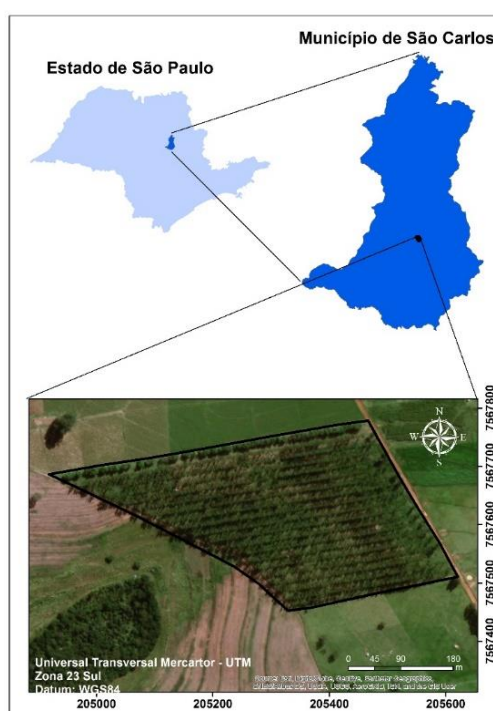


Figura 1. Localização geográfica da área de estudo.

### 2.2. Preparação dos dados

Para realizar o levantamento aéreo foram definidos o limite e o plano de voo para uma área ligeiramente maior que a de estudo. A ARP utilizada foi o drone Phantom 4 Advanced, da DJI. O voo foi executado de modo automático a uma altura de 90 metros com base no ponto inicial, e com uma sobreposição de imagens tanto frontal quanto lateral de 80%. Ressalta-se que o levantamento

foi feito sem pontos de controle, sendo que foi tomado como base a orientação das coordenadas obtidas pelo GNSS (Global Navigation Satellite System) da própria aeronave (HUNG et al., 2018), o que impõe limitações na precisão do levantamento, ao passo que algumas imagens precisaram ser realinhadas/georreferenciadas de forma manual para um ajuste mais preciso.

Os dados de altura utilizados como base para comparação foram obtidos utilizando clinômetro. Foram medidas 15 árvores por piquete experimental e de cada um foram extraídos os valores das médias das alturas das árvores.

As imagens obtidas foram processadas no software Agisoft PhotoScan Professional, em que foram realizadas uma série de procedimentos, em sequência: alinhamento das imagens; geração e classificação automática da nuvem de pontos; geração do Modelo Digital de Superfície – MDS e de Terreno – MDT (HUNG et al., 2018). Os modelos digitais gerados foram exportados para o software ArcGis 10.4 onde se utilizou a ferramenta “raster calculator” para subtrair o MDT do MDS, gerando o Modelo Digital de Altura (MDA). Em seguida, no ArcGis 10.4, os modelos foram recortados apenas para a área de estudo.

Para extrair os valores de altura das árvores do MDA foram criados pontos aleatórios dentro de cada piquete e os valores dos pixels que representam as alturas das árvores foram obtidos utilizando a ferramenta “extrair valores para pontos” no ArcGis 10.4. Por fim fez-se uma média das alturas de cada piquete que posteriormente foram correlacionadas com as médias das alturas nos piquetes obtidas com clinômetro.

### 3. Resultados e Discussão

Após a execução do plano de voo foram capturadas 474 fotos. O alinhamento, procedimento em que o software busca semelhança entre os pontos comuns nas imagens, foi executado na mais alta qualidade e obteve-se um total de 333.928 pontos (Figura 2). A nuvem densa de pontos gerada em alta qualidade, obteve um total de 100.202.337 pontos (Figura 3).

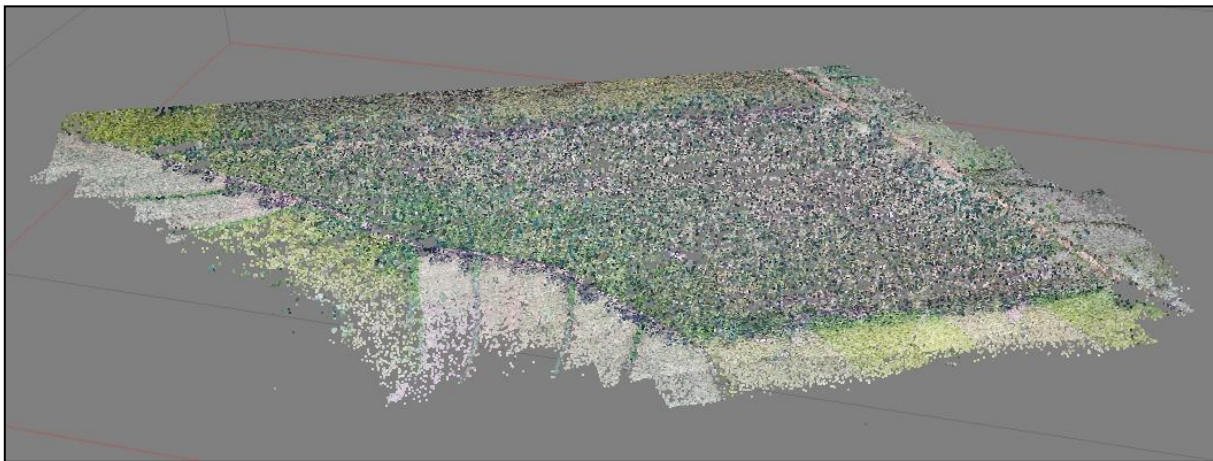


Figura 2. Alinhamento das 474 fotos obtidas.

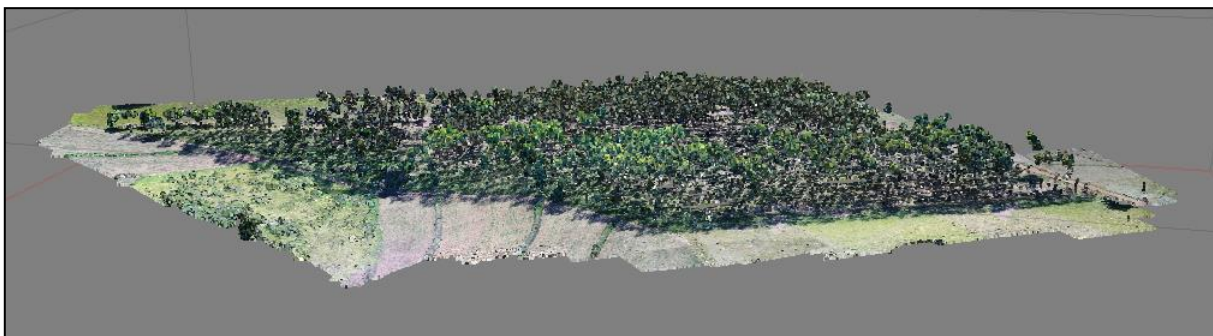


Figura 3. Nuvem densa de pontos.

Após a classificação automática da nuvem de pontos, foram retirados alguns pontos (ruídos) de forma manual, ao passo que estavam fora da tendência da superfície de relevo (HUNG et al., 2018). A figura 4 representa a nuvem de pontos reclassificada, sendo que os pontos em cor escura (marrom) são considerados como pertencentes ao nível do solo, enquanto os mais claros (brancos) são pertencentes ao que está acima do solo.

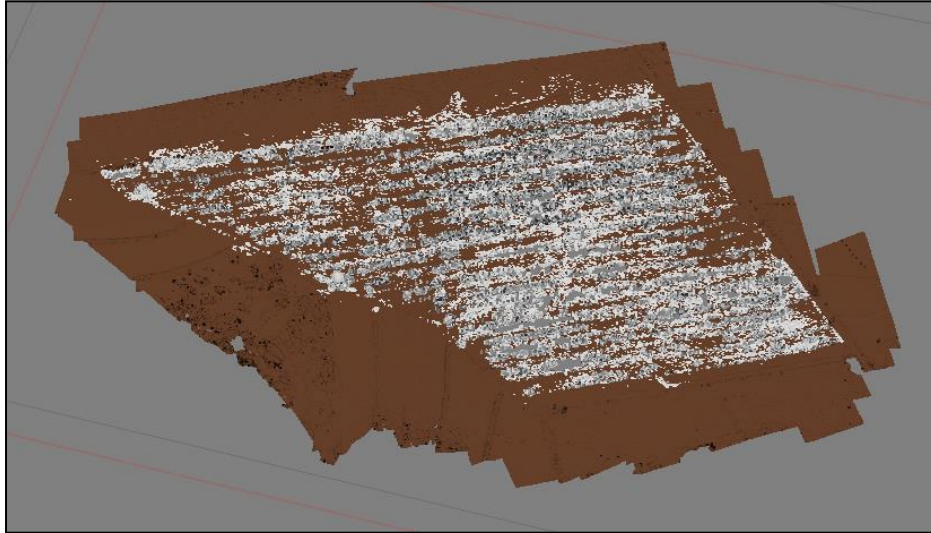


Figura 4. Reclassificação da nuvem de pontos.

O MDT gerado compreende apenas os pontos considerados como pertencentes ao solo, variando de 795 a 825 metros (Figura 5, esquerda), enquanto o MDS representa todas as estruturas presentes na superfície do terreno, neste caso inclui a vegetação, variando de 795 a 855 metros (Figura 5, direita).

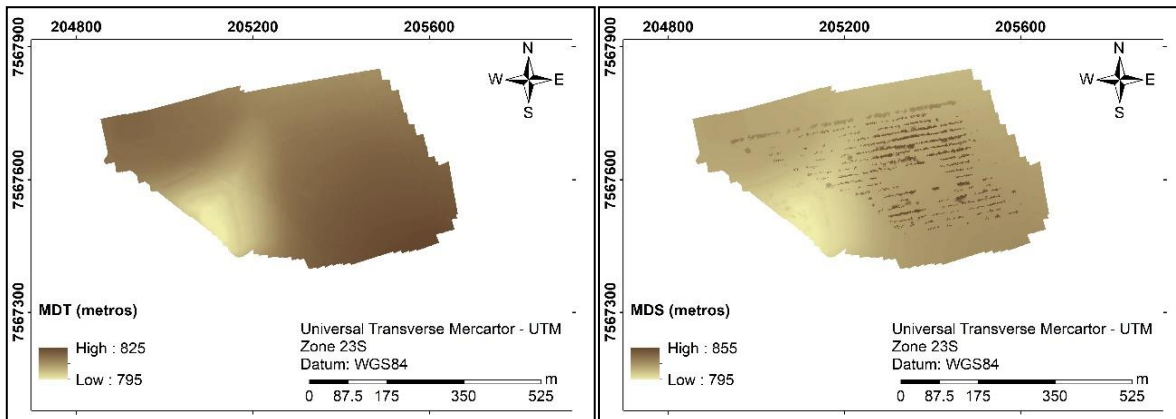


Figura 5. Modelo Digital de Terreno – esquerda, Modelo Digital de Superfície – direita.

O MDA gerado (figura 6) contém as informações dos dados que são pertencentes apenas aos objetos, no caso a vegetação, uma vez que os dados referentes ao solo foram removidos (PEREIRA, 2014). O MDA, já recortado para a área de estudo, apresentou valores que variam de 0 (nível do solo) a 37 metros de altura (vegetação - eucaliptos). O modelo apresentou alguns pontos com vazios o que dificultou a aquisição de mais de 15 pontos em todos os piquetes, sendo que a média das alturas destes piquetes foram desconsideradas, mas ressalta-se que o projeto ainda está em desenvolvimento e essas falhas serão corrigidas.

Foram comparadas as médias de alturas de árvores de 14 piquetes. A média das alturas das árvores nos piquetes, obtida com clinômetro foi de 30.69 metros, enquanto a média do MDA foi de 29.09 metros. O  $R^2$  obtido foi de 0.71.

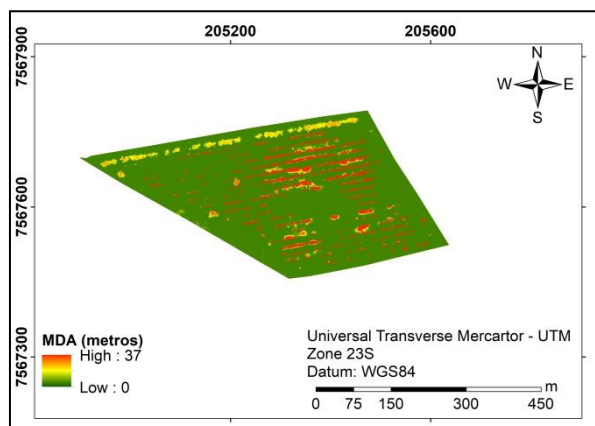


Figura 6. Modelo Digital de Altura.

#### 4. Conclusões

Os resultados obtidos por meio do MDA gerado permitiram estimar a altura das árvores em um sistema integrado, com valores de até 37 metros. Quando comparadas as médias estimadas por meio do MDA e medidas com clinômetro em campo, obteve-se um  $R^2$  de 0.71.

#### Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq e à Associação Rede-ILPF pelo suporte financeiro para a realização da pesquisa.

#### Referências

- DISPERATI, A. A.; AMARAL, R. F.; SCHULER, C. A. B. Introdução. Fotografias aéreas de pequeno formato: aplicações ambientais. Guarapuava: Unicentro. p. 262, 2007.
- GIUFFRIDA, F. Potential Uses and Considerations Regarding the Use of UAS Technology in Assessment. Inc.: Property Drone Consortium. 2015. Disponível em: <[http://www.propertydrone.org/docs/Potential\\_Uses\\_Considerations\\_Regarding\\_UAS\\_Technology\\_Assessment.pdf](http://www.propertydrone.org/docs/Potential_Uses_Considerations_Regarding_UAS_Technology_Assessment.pdf)>. Acesso em: 05/09/2019.
- GRAÇA, N.L.S.D.S.; MITISHITA, E. A.; GONÇALVES, J. E. Use of UAV platform as an autonomous tool for estimating expansion on invaded agricultural land. Boletim de Ciências Geodésicas, v. 23, n. 3, p. 509-519, 2017.
- HUNG, M. N. W. B.; SAMPAIO, T. V. M.; SCHULTZ, G. B.; SIEFERT, C. A. C.; LANGE, D. R.; MARANGON, F. H. S.; SANTOS, I. Levantamento com Veículo Aéreo Não Tripulado para Geração de Modelo Digital do Terreno em Bacia Experimental com Vegetação Florestal Esparsa. Raega - O Espaço Geográfico em Análise, 43, p. 215-231, 2018.
- LONGHITANO, G. A. VANTS para Sensoriamento Remoto: aplicabilidade na avaliação e monitoramento de impactos ambientais causados por acidentes com cargas perigosas. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Transportes) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3138/tde-10012011-105505/pt-br.php>>. Acesso em: 05/09/2019.
- PEREIRA, J. P. Mensuração automática de copas de Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze a partir de dados LiDAR para estimativa de variáveis dendrométricas. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2014.
- SILVA, M. B. Uso de VANT para a adequação ambiental e restauração de áreas degradadas do uso do solo em propriedades rurais: "estudo de caso em uma propriedade rural no município de Dourados-MS". Universidade Federal do Paraná, p. 58, 2016.
- SLOMPO, P. J. H. Utilização de um veículo aéreo não tripulado para obtenção de dados dendrométricos de Eucalyptus Benthamii maiden et cambage. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Concentração e Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, p. 51, 2013.

**DETERMINAÇÃO DE CARBONO EM SOLOS SOB SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUÇÃO ATRAVÉS DA TÉCNICA FOTÔNICA LASER INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY - LIBS**

M. A. R. Carvalho<sup>1,\*</sup>, A.M. Tadini<sup>2</sup>, K.S.G. Silva<sup>1</sup>, A.A.P. Xavier<sup>2</sup>, D.M.B.P. Milori<sup>2</sup>, A.C.C. Bernardi<sup>3</sup>, L. Martin-Neto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, Km 235, SP-310, 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo,

<sup>3</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, Rodovia Washington Luís, Km 234, Fazenda Canchim, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: mayara.ufscar@outlook.com

**Resumo:** Existe demanda para análises de solos que sejam mais rápidas, de menores custos e impactos ambientais, auxiliando na viabilização de métodos para agricultura de precisão. A Espectroscopia de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Laser (LIBS) foi preconizada nesse estudo para determinar C em solos sob sistemas integrados de produção. Os resultados mostraram que utilizando a emissão de Fe em 204.06 nm para corrigir a interferência de outra emissão de Fe que sobrepõe à emissão de C em 247.85 nm, foi possível obter um modelo de calibração linear univariado utilizando LIBS. Amostras de solos de um sistema de Integração Lavoura Pecuária Floresta (ILPF), do campo experimental da Embrapa Pecuária Sudeste, foram analisadas com detecção de C por LIBS e mostraram um coeficiente de correlação de 0,86 com a técnica de referência CHN. Este é mais um resultado mostrando a possibilidade da utilização de técnicas fotônicas e com possibilidades de futura obtenção de mapas de C em solos sob ILPF, como uma ferramenta de agricultura de precisão.

**Palavras-chave:** LIBS, matéria orgânica do solo, ILPF, agrossilvipastoril, agricultura de precisão.

**CARBON DETERMINATION IN SOILS OF INTEGRATED PRODUCTION SYSTEMS THROUGH LASER INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY – LIBS**

**Abstract:** Relevant demand to soil analysis is development of new method faster than current one with lower costs and with reduced environmental impacts, helping in generation of new tools to precision agriculture. Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) was recommended in this study to determine C in soils under integrated production systems, seeking to provide tools capable of assisting in the quantification of this element in the soil samples. The results showed that using Fe emission at 204.06 nm to correct Fe interference at C peak at 247.85 nm, it was possible to obtain a univariate linear calibration model using LIBS. Using soils samples from Integrated Crop Livestock Forest System (ICLFS) was possible to soil C quantification with a correlation coefficient of 0.86 related to CHN reference technique. This is a new result showing the possibility of using photonic techniques with future possibility to generate soil C maps in ICLFS, as a tool for precision agriculture.

**Keywords:** LIBS, soil organic matter, ICLFS, agrosilvopastoral, precision farming.

## 1. Introdução

O Sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF) destaca-se no âmbito de agricultura de baixa emissão de C no Brasil, uma vez que seus solos vêm mostrando capacidade de aumentar o conteúdo da matéria orgânica no solo, o que configura, em muitas situações, sequestro de C no solo, contribuindo para diminuição dos gases responsáveis pelo efeito estufa. Desta forma,

o sistema ILPF pode contribuir com o uso mais eficiente dos recursos naturais, como a melhoria da qualidade do solo e da água, o uso eficiente de fertilizantes e agrotóxicos, propiciando uma maior produtividade da propriedade rural, com diversificação dos sistemas produtivos, além de minimizar possíveis impactos negativos oriundos das mudanças climáticas (SÁ et al., 2017).

Os solos têm um importante papel na maioria das atividades que ocorrem no planeta, dentre as quais, se destaca a sua participação nos principais ciclos biogeoquímicos. A MOS tem um papel primordial em aspectos agronômicos e na sustentabilidade ambiental, pois está relacionada com a ciclagem de C e nutrientes. As entradas de C no solo ocorrem por meio da absorção de dióxido de carbono da atmosfera no processo de fotossíntese e sua incorporação ao solo pelos resíduos de plantas e animais. Enquanto que, as saídas ocorrem através da decomposição da MOS, que libera dióxido de carbono (XAVIER, 2014).

A análise de solo corresponde a um conjunto de procedimentos físicos e químicos que permitem avaliar as características físicas e químicas dos solos, como a quantidade de nutrientes disponíveis, teor de matéria orgânica, presença de elementos tóxicos, acidez, textura. Um dos maiores problemas das análises de solos em laboratórios é a seleção de métodos de extração e determinação dos elementos, visto que os métodos devem ser rápidos, exatos, de baixo custo e que não gerem resíduos através do uso de reagentes químicos. Neste contexto, se fazem necessários avanços na determinação e compreensão dos processos que ocorrem no solo envolvendo C. O uso de técnicas mais sustentáveis como a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Laser (LIBS) foi preconizada pelos autores desse estudo como método alternativo seguindo os princípios da Química Verde. Ela também pode colaborar com a viabilização de um número mais elevado de análises em campos de produção comerciais e de pesquisas como uma nova ferramenta para agricultura de precisão.

A Espectroscopia de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Laser, em inglês *Laser Induced Breakdown Spectroscopy* (LIBS), é uma técnica espectro analítica que utiliza um plasma gerado por pulsos de *laser* de alta energia para preparar e excitar os analitos em um único passo (FERREIRA, 2014). A primeira etapa do processo consiste em um pulso de *laser* atingindo a superfície da amostra. A energia gerada é convertida em aquecimento, removendo uma pequena porção da amostra e formando um plasma quente. A temperatura máxima de formação desse plasma é de aproximadamente 100.000 K. A energia fornecida é suficiente para excitar os átomos e íons para um estado de maior energia. Por volta de 1 microssegundo após a formação do plasma, a temperatura começa a diminuir, de modo que os átomos e os íons que o compõe perdem energia, ocorrendo emissão de luz. Assim, com a abertura dos espectrômetros, ocorre a aquisição do espectro (XAVIER, 2014). Sendo assim, o objetivo do trabalho é avaliar e desenvolver métodos para quantificar C em solos sob sistemas produtivos, utilizando a *Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Laser* (LIBS).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Área experimental, amostragem e preparo de amostras

A área experimental pertence a Embrapa Pecuária Sudeste, localizada no município de São Carlos-SP, em um latossolo vermelho-amarelo. O sistema ILPF é um dos sistemas de produção que foram estabelecidos e estão sendo monitorados desde 2011. A amostragem de solo foi realizada, em 2016, com a abertura de trincheiras de 120 cm de profundidade, nas quais foram amostradas 3 paredes cada uma. As 70 amostras do sistema ILPF foram maceradas e peneiradas a 60 mesh para homogeneização. Posteriormente, as amostras foram prensadas em pastilhas para análise DP LIBS.

### 2.2. Técnica de Referência – CHN

A análise elementar (CHN) foi realizada para todas as amostras pela equipe que compõe a cooperação do projeto na Embrapa Pecuária Sudeste. Os resultados foram utilizados para construção da curva de calibração com a técnica LIBS (BERNARDI et al., 2018).



### 2.3. Espectroscopia de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Laser (LIBS)

O sistema utilizado para a análise foi o LIBS-DP (Double Pulse), que consiste em dois lasers Nd:YAG operando em diferentes comprimentos de onda, ou seja, 1064 nm (Infravermelho – IV) e 532 nm (Visível - VIS). O Pulso IV é gerado por um Q-Switch Ultra (Quantel) Nd:YAG com uma energia máxima de 75 mJ e uma largura de 6 ns. O Pulso VIS é gerado por um Brillant Q-Switch YAG (Quantel) acoplado a um módulo gerador de segundo harmônico com uma energia máxima de 180 mJ e uma largura de 4ns. O Sistema 400 Butterfly Aryelle detecta e seleciona os comprimentos de onda. O espectrômetro do sistema é equipado com uma câmera ICCD (Intensified Charge Coupled Device) com 1024x1023 pixels, operando em duas bandas espectrais, 175-330 nm e 275-750 nm, com uma resolução espectral de 13-24 pm e 29-80 pm, respectivamente (NICOLODELLI et al., 2017). O intervalo espectral utilizado para a realização desse trabalho foi a de 175-330 nm. Na aquisição dos espectros de LIBS foram acumulados 5 disparos do laser na amostra. A largura janela de aquisição foi ajustada em 20.000  $\mu$ s, o tempo de aquisição em 405 ms e o interpulse 500 ns. Foram coletados 50 espectros por amostra.

### 2.4. Tratamento dos dados

Foi realizada uma minuciosa busca das emissões atômicas de C com o auxílio da plataforma NIST (National Institute of Standards and Technology), com a identificação das emissões que podem ocorrer no intervalo espectral utilizado. Após a identificação das linhas de emissão de C, os 50 espectros gerados para cada amostra foram importados para o programa LIBS Spectra Analyser (STENIO et al., 2018), no qual foi realizado o espectro médio, a remoção de outliers e o ajuste de curvas através da distribuição Lorentziana. Assim, foi possível obter a área média das curvas, que foi utilizada para a divisão da área de Fe pela área de C, normalizando o C para a construção da curva de calibração feita no software “Origin Pro” com a técnica de referência.

## 3. Resultados e Discussão

A partir da consulta ao NIST, foi possível observar que os picos de emissão de carbono não são intensos e nos solos analisados esses picos ainda sofreram interferências espectrais causadas pela emissão de elementos comuns em solos brasileiros, como é o caso do Al e do Fe. A emissão de C em 193,03 nm sofre interferência do Al e a emissão de C em 247,85 nm sofre interferência do Fe. O pico de C em 193,03 apresentou baixa intensidade em todas as amostras e existência de ruído (Figura 1), por isso optou-se pelo pico de C em 247,85 nm (Figura 2). Além disso, a partir de um espectro de correlação foi verificado que a linha de emissão de C em 193,03 nm tem alta correlação com a linha em 247,84 nm, evidenciando que se trata do mesmo elemento.

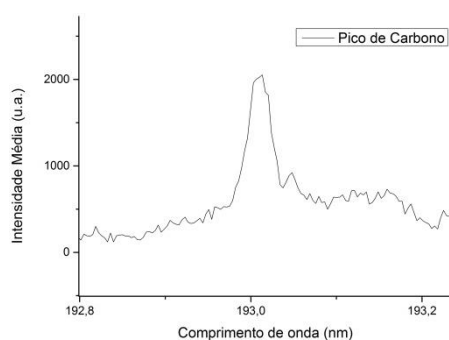


Figura 1. Pico de emissão de C em 193,03 nm  
Fonte: Autoria própria

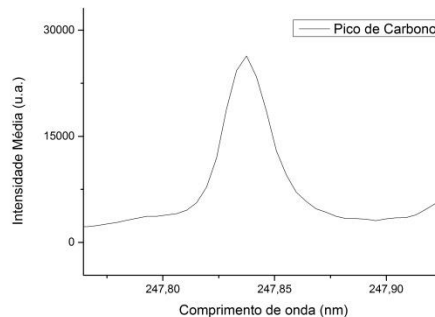


Figura 2. Pico de emissão de C em 247,85 nm  
Fonte: Autoria própria

Da plataforma do NIST, foi possível identificar que a linha de Fe que interfere na banda de C é a 247,06 nm. Desta forma, com o cálculo da banda de C+Fe em 247,85 nm e o pico de Fe em 247,06 nm, foi possível normalizar o pico de C (247,85 nm) interferido pelo Fe a partir da divisão com o pico de Fe em 247,06 nm. Assim, a informação de C em 247,85 nm foi isolada e obteve-se

um modelo linear univariado. A curva de calibração foi construída utilizando 90% do conjunto amostral, apresentando coeficiente de correlação de 0,86 (Figura 3). Os valores de C determinados por análise elementar estão concentrados entre 1 a 2%, chegando em 4%.

Para a validação foi utilizado 10% do conjunto amostral. Na Figura 4, é apresentado o gráfico de validação correlacionando os valores de C preditos por LIBS e os valores de referência por CHN. O erro médio absoluto relativo (EMAR) do modelo foi de 11,68%. O EMAR foi calculado a partir da equação abaixo:

$$EMAR = \frac{(\%C_{CHN} - \%C_{predito})}{\%C_{CHN}} \cdot 100$$

Onde:

$\%C_{CHN}$  = teor de carbono (%) determinado por análise elementar

$\%C_{predito}$  = teor de carbono (%) estimado pelo modelo do LIBS

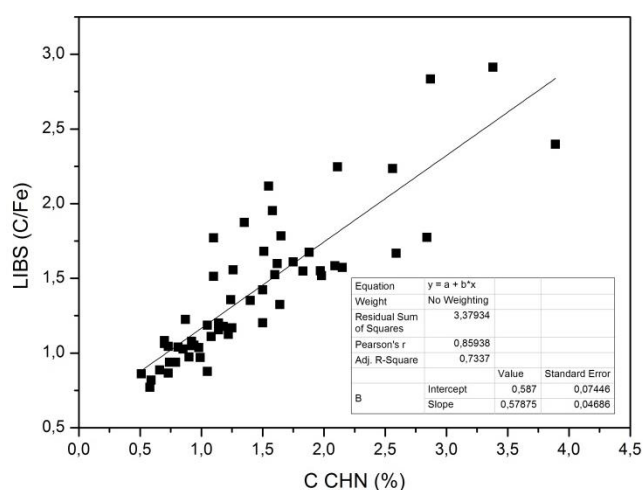


Figura 3. Curva de calibração LIBS e CHN  
Fonte: Autoria própria

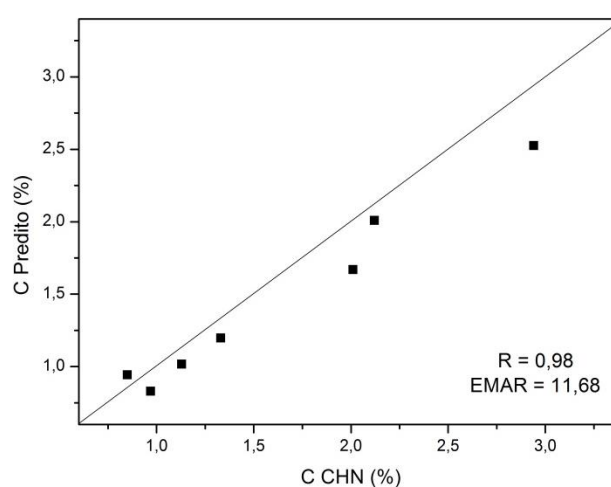


Figura 4. Curva de validação C Predito (%) e C CHN (%)  
Fonte: Autoria própria

#### 4. Conclusão

A técnica LIBS proporcionou bons resultados para o sistema ILPF, apresentando boa correlação com os valores de C determinados por análise elementar. Foi possível estimar o teor de C nas amostras com baixo erro de predição (em média 12%). O modelo construído permitiu a normalização do pico de C, eliminando a interferência do Fe. Desta forma, os resultados mostram a possibilidade da utilização de sistemas LIBS para medidas quantitativas de C em sistemas integrados de produção e a utilização de técnicas fotônicas para aplicações *in situ*, fornecendo informações que auxiliem na tomada de decisão, como uma ferramenta de grande utilidade para agricultura de precisão, e que colaborem para a intensificação sustentável da agropecuária.

#### Agradecimentos

Agradecimentos ao CNPq pelo financiamento da Bolsa PIBIC para M.A.R.C, à FAPESP pelo financiamento do projeto temático (nº 2017/20084-5), à Embrapa Instrumentação e Embrapa Pecuária Sudeste pela infraestrutura laboratorial e de campo experimental.

#### Referências

BERNARDI, A.C.C; ESTEVES, S.N.; PEZZOPANE, J.R.M.; ALVES, T.C.; BERNDT, A.; PEDROSO, A.F.; RODRIGUES, P.H.M.; OLIVEIRA, P.P.A. Soil carbon stocks under integrated crop-livestock-forest system in the Brazilian Atlantic Forest region. In: **21WCSS:**

- Proceedings of the 21st World Congress of Soil Science**; 2018, August 12-17; Rio de Janeiro, Brazil: SBCS. Vol. II, p.483, 2018.
- FERREIRA, E.C.; FERREIRA, E.J.; VILLAS-BOAS, P.R.; SENESI, G.S.; CARVALHO, C.M.; ROMANO, R.A.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D.M.B.P. Novel Estimation of the Humification Degree of Soil Organic Matter by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). **Spectrochimica Acta. Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 1, p. 123, 2014.
- NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST). **Atomic spectra database lines form**. Disponível em:  
<[https://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines\\_form.html](https://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html)>. Acesso em agosto de 2019.
- NICOLODELLI, G.; SENESI, G.S.; RANULFI, A.C.; MARANGONI, B.S.; WATANABE, A.; BENITES, V.M.; OLIVEIRA, P.P.A.; VILLAS-BOAS, P.; MILORI, D.M.B.P. Double pulse laser induced breakdown spectroscopy in orthogonal beam geometry to enhance line emission intensity from agricultural samples. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 272-278, 2017.
- SÁ, J.C.M. et al.. Low-carbon agriculture in South America to mitigate global climate change and advance food security. **Environment International**, v. 98, p. 102-112, 2017.
- STÊNIO, K.; VILLAS-BOAS, P. R.; MILORI, D. M. B. P. Desenvolvimento de software para análise de espectros LIBS. In: **6º Simpósio de Biotecnologia da UFSCar (VI SBU)**. Anais. São Carlos, 2018.
- XAVIER, A.A.P. Avaliação do acúmulo e emissão de carbono do solo sob sistemas produtivos de pastagem. Dissertação de Mestrado em Química Analítica e Inorgânica – **Instituto de Química de São Carlos**, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014. doi: 10.11606/D.75.2014.tde-10122014-101014.

## DESEMPENHO DE MÉTODOS PARA ESTIMATIVA DO ÍNDICE DE VEGETAÇÃO POR DIFERENÇA NORMALIZADA EM VIDEIRAS MEDIANTE SENSORIAMENTO PROXIMAL

B. R. S. Costa<sup>1</sup>, H. Oldoni<sup>1</sup>, T. M. M. Silva<sup>1</sup>, L. H. Bassoi<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> FCA UNESP Depto de Engenharia Rural, Av. Universitária, 3780, 18610-034, Botucatu, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, R. XV de Novembro, 1452, Caixa Postal 741, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: [luis.bassoi@embrapa.br](mailto:luis.bassoi@embrapa.br)

**Resumo:** O sensoriamento proximal do dossel de videiras (*Vitis vinifera* L.) permite o monitoramento intensivo do seu vigor vegetativo a partir da estimativa de índices de vegetação, a exemplo do NDVI. Dentre outros equipamentos comerciais, o sensor ACS-430 foi desenvolvido para fornecer medidas espectrais invariáveis em função da altura em relação aos alvos. Contudo, devido a descontinuidade do dossel de videiras conduzidas em espaldeira, o estudo objetivou avaliar o desempenho do ACS-430, comparando-se o NDVI estimado mediante diferentes disposições do equipamento em relação ao dossel e verificando-se a existência de associações significativas entre essas medidas e parâmetros biofísicos das plantas. A avaliação foi conduzida em vinhedos cultivados com as variedades Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon. A distância e a orientação do sensor não proporcionaram diferenças significativas nas estimativas do NDVI. Entretanto, medidas realizadas no topo do dossel foram inferiores e significativamente diferentes em comparação àquelas tomadas na lateral das plantas (p-valor < 0,01). As medidas obtidas acima da copa se correlacionaram significativamente com a área total e a biomassa seca foliar. O NDVI estimado lateralmente, usando feixe luminoso projetado perpendicularmente e originado a 0,80 m do dossel, apresentou correlação significativa (p-valor < 0,10) com o índice de clorofila total das videiras.

**Palavras-chave:** instrumentação agrícola, viticultura de precisão, vigor vegetativo, teor relativo de clorofila.

### **PERFORMANCE OF METHODS FOR ESTIMATION OF THE NORMALIZED DIFFERENCE VEGETATION INDEX IN WINE VINES BY PROXIMAL SENSING**

**Abstract:** Proximal sensing of grapevines (*Vitis vinifera* L.) allows the continuous monitoring of their vegetative vigor based on the estimation vegetation indexes such as the NDVI. Unlike others commercial devices, the ACS-430 active sensor was designed to provide height-independent spectral measurements. However, due to the canopy discontinuity of wine grapes trained in vertical shoot position trellis system, this study aimed to evaluate the performance of the ACS-430 by the comparison of NDVI obtained from different measuring arrangements and by the examination of associations between these measurements and plant biophysical traits. The evaluation took place at two different vineyards cultivated with Cabernet Franc and Cabernet Sauvignon. The measuring distance and the sensor orientation did not affect the NDVI estimations. Nevertheless, NDVI measurements taken at 0.30 m upward the canopy were lower and significantly different than those taken sideways (p-value < 0.01). The NDVI mensuration taken above the canopy was also well correlated with plant leaf area and dry biomass. NDVI measured sideways along the canopy, with an upright oriented light beam started at 0.80 m far, provided a significant association (p-value < 0.10) with relative leaf chlorophyll content.

**Keywords:** agricultural instrumentation, precision viticulture, vegetative vigor, relative leaf chlorophyll content.

## 1. Introdução

A avaliação do vigor vegetativo das culturas pode ser feita por meio da estimativa de índices de vegetação (IV), uma vez que a assinatura espectral de superfícies vegetadas se correlaciona com características biofísicas das folhas e, por sua vez, com aspectos agrônômicos dos cultivos, como a área foliar (VIÑA et al., 2010) e o estado nutricional e fitossanitário das mesmas (CAMMARANO, et al., 2014; FENG et al., 2017). Dentre os IV utilizados, o índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) proposto por Rouse et al. (1973) tem seu uso comumente citado na literatura.

O vigor vegetativo das videiras afeta as condições microclimáticas e exerce influência sobre aspectos fisiológicos e produtivos das plantas. Assim, a medida do NDVI é uma alternativa viável para a avaliação da condição vegetativa da videira pois viabiliza o monitoramento intensivo de sua variabilidade no contexto da viticultura de precisão (VP). Assim, no cultivo de variedades viníferas de videiras, a utilização do NDVI tem sido direcionada para orientação da colheita diferenciada, bem como para a avaliação de parâmetros de qualidade e produção, conforme relatado por Best et al. (2005), Trought e Bramley (2011), Martinez-Casasnovas et al. (2012) e King et al. (2014).

Dentre as técnicas de monitoramento remoto dos IV, o sensoriamento proximal torna possível a avaliação contínua de atributos vegetativos da cultura ao nível de campo, graças ao desenvolvimento de tecnologias e equipamentos específicos, tais como os sensores ópticos de reflectância (GreenSeeker - Trimble Navigation Limited, Sunnyvale, CA, EUA) e os sensores ativos associados ao sistema portátil (Crop Circle - Holland Scientific, Lincoln, NE, EUA). O uso de sensores de reflectância na avaliação de cultivares viníferas de videiras é referenciada por demais autores (Drissi et al., 2009, Stamatiadis et al., 2009, Calcante et al., 2012, Takos et al., 2019).

Dentre os sensores que integram o sistema CropCircle, destaca-se o sensor ativo ACS-430, o qual incorpora três canais de medidas ópticas e fornece medidas simultâneas de reflectância nos comprimentos de 670, 730 e 780 nm, o que possibilita a estimativa do NDVI e de outros IV. O ACS-430 possui as vantagens de não sofrer influência das condições luminosas locais e de fornecer medidas que independem da altura do sensor em relação ao alvo, uma vez que as bandas de reflectância espectral são dimensionadas como porcentagens que não se alteram em função das distâncias em que são feitas as medidas.

Contudo, faz-se necessário avaliar o desempenho do sensor em culturas que apresentam dossel descontínuo, como ocorre em videiras conduzidas em espaladeira. Nessas condições a cultura é disposta em fileiras e apresenta uma pequena fração da vegetação cobrindo o solo, dada a orientação vertical de sua copa. Logo, para fins de recomendação de métodos adequados de uso do sensor ACS-430 em videiras cultivadas conforme mencionado, torna-se imprescindível avaliar os possíveis efeitos da localização, posição e distância do sensor quanto ao dossel das plantas, que resultem em medidas fidedignas do NDVI proporcionais ao vigor vegetativo dos vinhedos.

Desta forma, o estudo teve como objetivo testar o desempenho do sensor ativo ACS-430 para caracterização do vigor vegetativo de videiras viníferas cultivadas em sistema de espaladeira. Avaliou-se o efeito da adoção de diferentes metodologias de amostragem nas estimativas do NDVI Além disso, examinou-se a existência e magnitude da associação entre o NDVI estimado por diferentes esquemas de disposição do sensor e parâmetros biofísicos relacionados à condição vegetativa de videiras.

## 2. Material e Métodos

As avaliações foram realizadas ao final do ciclo de produção de 2019 em 2 vinhedos comerciais irrigados pertencentes à Vinícola Guaspari, localizada no município de Espírito Santo do Pinhal, SP, durante o período de repouso vegetativo da cultura. Os vinhedos foram cultivados com as variedades Cabernet Franc (CF) e Cabernet Sauvignon (CS) (*Vitis vinifera* L.), ambas castas de uvas tintas, enxertadas sobre o porta-enxerto Paulsen 1103. Em ambos os vinhedos adotou-se o sistema de condução em espaladeira, com orientação vertical do dossel das plantas e sistema de poda de formação do tipo Royat, a partir do qual direcionou-se um único cordão esporonado por planta.

Em uma única ocasião, foram realizadas estimativas do NDVI em 54 videiras (27 plantas

por cultivar), compreendidas em 18 grupos de 3 plantas adjacentes cada, localizados em posições variadas nos vinhedos. A amostragem de dados foi feita por caminhamento utilizando-se o sensor ativo ACS-430 (Holland Scientific, Lincoln, NE, EUA), configurado para aquisição de 10 medidas por segundo, a partir das quais calculou-se valores médios para cada planta. Seis diferentes metodologias de amostragem (Tabela 1) foram delineadas a partir da combinação de 3 diferentes critérios: a) a localização do sensor (topo ou lateral); b) a orientação do sensor, ou seja, o sentido da projeção da luz emitida pelo equipamento (paralelo ou perpendicular); c) a distância do sensor (0,30 e 0,80 m) em relação ao dossel. Medidas distanciadas à 0,80 m acima do topo do dossel não foram tomadas, dada as dificuldades práticas para sua realização em razão da natureza portátil do sistema do qual o ACS-430 foi componente (CropCircle), levando-se em conta a altura das videiras.

Tabela 1. Critérios de delineamento dos métodos de amostragem do índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) obtido por sensoriamento remoto proximal utilizando-se o sensor ACS-430 em cultivares viníferas de videira.

Método	Critério a	Critério b	Critério c
	Localização do sensor	Orientação do sensor	Distância do alvo
M1	Topo	Paralelo	0,30 m
M2	Topo	Perpendicular	0,30 m
M3	Lateral	Paralelo	0,30 m
M4	Lateral	Paralelo	0,80 m
M5	Lateral	Perpendicular	0,30 m
M6	Lateral	Perpendicular	0,80 m

Medidas de parâmetros biofísicos relacionados ao vigor vegetativo foram coletadas em 18 plantas (9 por cultivar) dentre aquelas nas quais empregou-se as metodologias de amostragem do NDVI. Essas plantas foram desfolhadas e uma amostra de 30 folhas por planta foi retirada para a medida do índice relativo de clorofila total (CL, adimensional) por meio do medidor portátil ClorofiLOG modelo CFL1030 (Falker Automação Agrícola, Porto Alegre, RS, Brasil). Na sequência, estimou-se a sua área foliar total (AF, m<sup>2</sup>) a partir do somatório de medidas das áreas individuais de todas as folhas componentes do seu dossel, obtidas por meio do integrador de área foliar LI-3100C (LI-COR, Lincoln, NE, EUA). Por fim, as folhas foram secas em estufa (50 °C, até atingirem peso constante) e pesadas para obtenção da massa da matéria seca foliar (MS, kg).

A comparação entre os valores médios das estimativas do NDVI obtidas pelas diferentes metodologias de coleta de dados foi feita por meio de análise de variância (ANOVA). Assumindo-se a significância do teste F, diferenças entre as metodologias quanto à estimativa do NDVI foram evidenciadas conforme o teste de comparações múltiplas de Scott Knott, considerando-se um nível de significância mínimo de 5% (valor  $p < 0,05$ ). Além disso, testou-se a existência de correlações lineares entre as medidas de NDVI obtidas pelos diferentes métodos e os parâmetros biofísicos das videiras, por meio do cálculo do coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) e da estimativa de sua significância. Utilizou-se o *software* R versão 3.6.1 (R CORE TEAM, 2019) para a análise estatística dos dados.

### 3. Resultados e Discussão

As cultivares de videira avaliadas não apresentaram diferenças significativas entre si, segundo o teste F, quanto aos parâmetros biofísicos indicadores do vigor vegetativo mensurados nas ocasiões de amostragem do NDVI. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) dos parâmetros AF, CL e MS referentes às cultivares CF e CS, respectivamente, foram iguais a  $1,099 \pm 0,316$  e  $1,022 \pm 0,458$  m<sup>2</sup>,  $28,428 \pm 2,337$  e  $27,759 \pm 2,460$  e  $0,086 \pm 0,030$  e  $0,070 \pm 0,036$  kg, nessa ordem. Esses resultados indicaram que as condições vegetativas das videiras de ambas as cultivares ao final do ciclo de produção foram semelhantes. Contudo, a magnitude da variabilidade relativa dos dados de todos os parâmetros mencionados também contribuiu para a ausência de diferenças significativas na

comparação entre as cultivares. Essa maior dispersão se deu em razão da escolha de plantas com condições vegetativas distintas, previamente selecionadas para fins de adoção das metodologias de amostragem do NDVI, considerando-se a obtenção de uma maior amplitude de valores desse índice.

As metodologias de amostragem apresentaram diferenças significativas segundo o teste F ( $p$ -valor  $< 0,01$ ) quanto à estimativa do NDVI, assumindo-se o conjunto das observações realizadas em ambas as cultivares (Tabela 2). O teste de comparação múltipla permitiu diferenciar as metodologias de utilização do sensor ACS-430 baseando-se apenas no critério da localização do equipamento em relação à copa das videiras no momento da coleta de dados de NDVI. Foi possível observar que as medidas desse índice realizadas no topo do dossel foram inferiores e diferiram significativamente daquelas obtidas lateralmente às plantas. Por sua vez, não houve diferenças significativas entre as estimativas do NDVI obtidas pelos métodos no tocante à orientação do feixe de luz emitido pelo equipamento bem como à distância do sensor em referência ao dossel, uma vez que não diferiram entre si quanto a esses critérios.

Tabela 2. Estatística descritiva referente ao índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) obtido por sensoriamento remoto proximal utilizando-se o sensor ACS-430 em diferentes métodos de amostragem em cultivares viníferas de videira.

Método	Média	Desvio	CV (%)
M1	0,599 <sup>b</sup>	0,083	13,798
M2	0,581 <sup>b</sup>	0,078	13,373
M3	0,646 <sup>a</sup>	0,077	11,863
M4	0,621 <sup>a</sup>	0,065	10,424
M5	0,643 <sup>a</sup>	0,085	13,154
M6	0,628 <sup>a</sup>	0,064	10,246

Valores médios seguidos de mesma letra não diferem entre si segundo o teste de Scott Knott ( $p$ -valor  $< 0,01$ ). CV (%) coeficiente de variação.

Avaliando-se a existência de correlações lineares significativas entre o NDVI estimado pelos métodos de amostragem e os parâmetros biofísicos das videiras (Tabela 3), observou-se que as metodologias que adotaram o topo do dossel como critério de localização do sensor no momento da amostragem, apresentaram melhor desempenho em comparação às demais. Nesse sentido, uma vez que os métodos M1 e M2 não diferiram entre si quanto aos valores médios estimados de NDVI, a caracterização do vigor vegetativo com base na AF independe do sentido da projeção do feixe de luz emitido pelo sensor. Entretanto, destaca-se que apenas o método M1 demonstrou correlação significativa quanto à MS. Por sua vez, apenas a estimativa do NDVI obtida pelo método M6 associou-se de maneira significativa com o CL, o que permitiu concluir que essa abordagem pode representar uma alternativa para a estimativa indireta do conteúdo de pigmentos fotossintéticos em ambas as cultivares de videira.

Tabela 3. Coeficientes de correlação linear de Pearson ( $r$ ) referentes à associação entre o índice de vegetação por diferença normalizada obtido por sensoriamento remoto proximal em diferentes métodos de amostragem e parâmetros biofísicos de cultivares de videira.

Método	AF	CL	MS
M1	0,572 <sup>*</sup>	0,310 <sup>ns</sup>	0,505 <sup>#</sup>
M2	0,440 <sup>#</sup>	0,312 <sup>ns</sup>	0,332 <sup>ns</sup>
M3	0,072 <sup>ns</sup>	0,144 <sup>ns</sup>	-0,015 <sup>ns</sup>
M4	0,104 <sup>ns</sup>	0,192 <sup>ns</sup>	-0,038 <sup>ns</sup>
M5	0,322 <sup>ns</sup>	0,201 <sup>ns</sup>	0,185 <sup>ns</sup>
M6	0,324 <sup>ns</sup>	0,410 <sup>#</sup>	0,209 <sup>ns</sup>

\*: significativo a 5%; #: significativo a 10%; ns: não significativo. AF: área foliar total; CL: teor relativo de clorofila foliar total; MS: massa da matéria seca de folhas.

#### 4. Conclusões

A localização do sensor ACS-430 em relação ao dossel de videiras Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon cultivadas em sistema de espaldeira afeta as estimativas de NDVI. Quando feitas a partir do topo das videiras, os valores são inferiores àqueles obtidos a partir do posicionamento do sensor lateralmente às plantas. A variação da orientação e da distância do feixe de luz em relação à copa não proporcionou diferenças significativas em tais estimativas.

Medidas do NDVI realizadas com o sensor posicionado no topo das videiras e distanciado a 0,30 m em relação ao dossel demonstraram correlações significativas com parâmetros indicadores do vigor vegetativo. Estimativas do mesmo índice obtidas com o sensor posicionado lateralmente às videiras, com feixe de luz originando-se a 0,80 m e orientado em sentido perpendicular em relação ao dossel, demonstraram correlação significativa com o teor relativo de clorofila total.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos e financiamento do projeto; à Vinícola Guaspari pela concessão da área e apoio durante a pesquisa; e à Embrapa Pecuária Sudeste pela disponibilização do equipamento para medição de área foliar em laboratório.

#### Referências

- BEST, S., LEÓN, L., CLARET, M. Use of precision viticulture tools to optimize the harvest of high-quality grapes. Proceed. In: FRUTIC FRUITS AND NUTS AND VEGETABLE PRODUCTION ENGINEERING TIC CONFERENCE, 2005, Montpellier. Proceedings... Montpellier: 2005, p.249-258.
- CALCANTE, A. et al. Evaluation of “ground sensing” optical sensors for diagnosis of *Plasmopara viticola* on vines. Spanish Journal of Agricultural Research, v. 10, n. 3, p. 619-630, 2012.
- CAMMARANO, D. et al. Assessing the robustness of vegetation indices to estimate wheat N in Mediterranean environments. Remote Sensing, v. 6, p. 2827-2844, feb. 2014.
- DRISSI, R. et al. Nondestructive measurement of grapevine leaf area by ground Normalized Difference Vegetation Index. Agronomy Journal, v. 101, n.1, p. 226-231, jan. 2009.
- FENG, W. et al. Canopy vegetation indices from in situ hyperspectral data to assess plant water status of winter wheat under powdery mildew stress. Frontiers in Plant Science, v. 8, 12p., 13 jul. 2017.
- KING, P. D. et al. Within-vineyard variability in vine vegetative growth, yield, and fruit and wine composition of Cabernet Sauvignon in Hawke’s Bay, New Zealand. Australian Journal of Grape and Wine Research, v. 20, n. 2, p. 234-246, jun. 2014.
- MARTINEZ-CASASNOVAS, J. A. et al. Analysis of vineyard differential management zones and relation to vine development, grape maturity and quality. Spanish Journal of Agricultural Research, v. 10, n. 2, p. 326-337, may. 2012.
- ROUSE, J. W. et al. Monitoring vegetation systems in the great plains with ERTS. In: EARTH RESOURCES TECHNOLOGY SATELLITE SYMPOSIUM, 1973, Washington. Proceedings... Washington: NASA, 1973, p.309-317.
- STAMATIADIS, S. et al. Comparison of passive and active canopy sensors for the estimation of vine biomass production. Precision Agriculture, v. 11, n. 3, p. 306-315, jun. 2009.
- TASKOS, D. et al. Effects of an *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. extract on grapevine yield and berry composition of a Merlot vineyard. Scientia Horticulturae, v. 250, p. 27-32, 10 may. 2019.
- TROUGHT, M. C. T.; BRAMLEY, R. G. V. Vineyard variability in Marlborough, New Zealand: characterizing spatial and temporal changes in fruit composition and juice quality in the vineyard. Australian Journal of Grape and Wine Research, v. 17, p. 7989, jan. 2011.
- VIÑA, A. et al. Comparison of different vegetation indices for the remote assessment of green leaf area index of crops. Remote Sensing of Environment, v. 115, p. 3468-3478, 15 dec. 2010.



## STAKEHOLDERS COMO CENTRO DA ESTRATÉGIA DO PROJETO PECUÁRIA DO FUTURO: UM CAMINHO PARA A INOVAÇÃO

Fragalle, C. V. P.<sup>1,\*</sup>, Santos, P. M.<sup>1</sup>, Telles, M. A.<sup>1</sup>, Pezzopane, J. R. M.<sup>1</sup>, Santos, T. T.<sup>2</sup>, Nogueira, S. F.<sup>3</sup>, Silva, G. B.S.<sup>3</sup>, Koenigkan, L.V.<sup>2</sup>, Maio, A. M. D. De<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Embrapa Pecuária Sudeste, Rodovia Washington Luiz, Km 234 s/nº, Fazenda Canchim, CEP: 13560-970 - São Carlos - SP*

<sup>2</sup> *Embrapa Informática Agropecuária, Av. André Tosello, nº 209 Campus da Unicamp, Barão Geraldo CEP: 13083-886 - Campinas - SP*

<sup>3</sup> *Embrapa Meio Ambiente, Rodovia SP-340, Km 127,5, Tanquinho Velho CEP: 13918-110, Jaguariúna, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: cristiane.fragalle@embrapa.br*

**Resumo:** O trabalho descreve uma das experiências do projeto Pecuária do Futuro, que tem como foco a interação com *stakeholders* e seus três princípios: estratégia integrada de engajamento, influência na governança e geração de inovação. A governança do projeto ocorre em tempo real, com ajustes de direção realizados para chegar ao produto ideal a partir de cada iteração com os *stakeholders* com uso de metodologias de experimentação de produtos e serviços. A experiência descrita é a mais recente interação, o teste de três protótipos de ferramentas apontadas por esses *stakeholders* desde o início do projeto como úteis para o cliente. Os protótipos foram desenvolvidos no software Pidoco, testados por um grupo focal de produtores e técnicos em seus telefones celulares e avaliados por meio de uma matriz de feedback utilizada em dinâmicas de *design thinking*. Ainda, os *stakeholders* propuseram funcionalidades nos protótipos com o uso de metodologia de *visual thinking*. Os pesquisadores do projeto analisaram em tempo real as sugestões de melhoria. Dez dias foi o tempo do ciclo de preparação dos protótipos, testes e a incorporação das melhorias. Os novos protótipos serão novamente expostos a uma rede de 400 *stakeholders* ligados ao Portfólio de Pastagens da Embrapa. A ferramenta Pidoco se mostrou eficiente para o teste rápido de protótipos e a possibilidade de testar funcionalidades durante a execução do projeto, com a pesquisa ainda no campo, o que permite fazer ajustes nas atividades que estão ocorrendo para implementar a solução ideal de acordo com a demanda dos clientes.

**Palavras-chave:** pecuária, inovação, engajamento, *stakeholders*, comunicação.

## STAKEHOLDERS AS A CENTER FOR THE FUTURE LIVESTOCK PROGRAM STRATEGY: A WAY FOR INNOVATION

**Abstract:** The paper describes one of the experiences of the Livestock of the Future project, which focuses on interaction with *stakeholders* and its three principles: integrated engagement strategy, influence on governance and innovation generation. Project governance takes place in real time, with steering adjustments made to arrive at the ideal product from each iteration with *stakeholders* using product and service experimentation methodologies. The experience described is the most recent interaction, testing of three prototype tools pointed out by these *stakeholders* from the beginning of the project as useful to the customer. The prototypes were developed in the Pidoco software, tested by a focus group of producers and technicians on their mobile phones and evaluated using a feedback matrix used in design thinking dynamics. Still, the *stakeholders* proposed functionalities in the prototypes using visual thinking methodology. The project researchers analyzed the improvement suggestions in real time. Ten days was the time of the prototype preparation cycle, testing and incorporation of improvements. The new prototypes will again be exposed to a network of 400 *stakeholders* linked to Embrapa's Pasture Portfolio. The Pidoco tool proved to be efficient for rapid prototype testing and the ability to test functionality during project

execution, with research still in the field, allowing you to make adjustments to the activities that are taking place to implement the optimal solution according to your customer needs.

**Keywords:** livestock, innovation, engagement, stakeholders, communication.

## 1. Introdução

O projeto de pesquisa Pecuária do Futuro, da Embrapa Pecuária Sudeste, surgiu centrado na 3ª geração de mudança na interação com *stakeholders*, que tem como base três princípios: i) estratégia integrada de engajamento; ii) influência na governança; iii) geração de inovação. No contexto “interação clima e pasto”, o projeto identificou oportunidades de desenvolvimento de produtos, serviços e/ou processos que propiciem melhorias da eficiência de sistemas de produção de gado de corte, alinhadas às expectativas dos *stakeholders*. Somente a partir de uma jornada de levantamento e sistematização das necessidades dos *stakeholders*, o projeto foi submetido para execução. Desde 2014, antes da submissão, até os dias atuais, em execução, o projeto mantém seus *stakeholders* como centro da estratégia. Com isso, buscou primeiro compreender seu cliente e quais eram os seus problemas latentes para desenvolver entregas que fossem reais soluções para o mercado. Para tanto, a equipe do projeto utiliza amplamente diversos recursos, tais como interações personalizadas e encontros periódicos com seus *stakeholders* para criar redes de conversas altamente participativas e desenvolver inteligência coletiva sobre um tema (BOJER, 2010), favorecendo o processo de inovação e o uso de metodologias ágeis e participativas de cocriação que engajam, integram, fomentam diálogo, desenvolvem inteligência coletiva, levantam *insights* e tendências. Um dos exemplos é o uso de metodologia de *lean startup*, maneira de considerar o desenvolvimento de produtos novos e inovadores, que enfatiza a interação rápida e a percepção do consumidor (RIES, 2011) para validar conceitos e protótipos de produtos. Com o uso, a influência na governança do projeto ocorre em tempo real, com ajustes de direção realizados para chegar ao produto ideal a partir de cada iteração com os *stakeholders*.

A metodologia descrita neste trabalho descreve a ação mais recente realizada no âmbito do projeto Pecuária do Futuro, o teste dos protótipos dos sistemas de tomada de decisão a serem desenvolvidos.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Descrição do modelo teórico

Segundo Eric Ries (2011), o pensamento enxuto define valor como algo que proporciona valor ao cliente; todo o restante é desperdício. A metodologia de *lean startup* investe mais em contato com o cliente, construindo metodologias de experimentação de produtos e serviços, em detrimento de planejamento e execução cega. Com isso, prioriza a aprendizagem validada cientificamente por meio de experimentos frequentes que permitem testar cada elemento de sua visão junto aos clientes em um ciclo denominado construir-medir-aprender. Esse ciclo é tido como uma atividade fundamental para transformar ideias em produtos, medir como os clientes reagem, e, então, aprender se é o caso de pivotar (mudar a rota) ou de perseverar. Para Ries (2011), todos os processos bem-sucedidos devem ser voltados a acelerar esse ciclo de *feedback*. A metodologia prioriza a velocidade em percorrer esse ciclo e busca: (a) ter dados mais precisos acerca da demanda do cliente, pois observa o comportamento do cliente real em vez de formular perguntas hipotéticas; (b) colocar-se numa posição para interagir com clientes reais e aprender a respeito de suas necessidades e (c) permitir-se ser surpreendido quando os clientes se comportam de maneiras inesperadas, revelando informações que talvez não percebesse para perguntar a respeito.

Para Cooper e Vlaskovits (2010) a metodologia de *lean startup* está embasada em quatro tendências: o uso de plataformas habilitadas por *software* livre e código aberto, a aplicação de metodologias de desenvolvimento ágil, a iteração rápida feroz centrada no cliente e o uso de análises poderosas, de baixo custo e fáceis de usar.

## 2.2. Delineamento experimental

Foram desenvolvidos protótipos para testes de ferramentas apontadas desde o início do projeto como úteis para o cliente. Para tanto, foi utilizada a ferramenta Pidoco (<https://pidoco.com/en>), um *software* de colaboração baseado em nuvem para criar, compartilhar e testar *wireframes*, maquetes e protótipos de *sites*, aplicativos móveis e aplicativos de *software* corporativo. Os protótipos têm como premissa demonstrar o conceito, representar possíveis funcionalidades e validar a necessidade do mercado. Não são utilizados no desenvolvimento do produto. São descartados e o mapeamento de aprendizado validado é usado para as futuras iterações e construção de um produto que tenha aderência ao mercado. Os três protótipos foram desenvolvidos pela equipe de comunicação e de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) do projeto no prazo de cinco dias:

a) ferramenta ligada à adubação de pastagens -

<https://pidoco.com/rabbit/invitation/t6Qc7K8v2WvtfiAa4UX5Zbdu04D3foE4TW5EAFGU>

b) sistema que utiliza imagens de satélite para calcular o volume de biomassa nos pastos

<https://pidoco.com/rabbit/invitation/Z4CeDKtGvsrssVLYabngjYfy5vtj9syDN9liyY7i>

c) protótipo com uso de drones para o manejo de pastagens

<https://pidoco.com/rabbit/result/view/286871/page175811454/sketchedArial>

Os *stakeholders* do projeto foram selecionados de acordo com o perfil (técnicos e produtores) e convidados a participar de uma oficina de teste de protótipos do projeto Pecuária do Futuro, que ocorreu na manhã do dia 20 de agosto de 2019, na Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos, SP. A oficina contou com 21 participantes e foi dividida em dois momentos: o primeiro com três rodadas de testes de protótipos e *feedback* dos usuários, cada rodada para um dos protótipos. Os participantes fizeram os testes pelos *links* enviados aos seus celulares e faziam suas anotações individuais em uma ficha chamada de "matriz de feedback do protótipo" (Figura 1), utilizada em metodologias de *design thinking* (VIANNA et. al 2011). Em cada rodada, os participantes puderam falar com o grupo sobre suas percepções e dúvidas.

**MATRIZ DE FEEDBACK** Solução: \_\_\_\_\_




 <p><b>Nos fale de você!</b> Nome/Idade/Localidade/ Ocupação/ Sua maior frustrações sobre o problema que o protótipo busca resolver ...</p>	<p><b>O que funcionou?</b> Funcionalidades/características que você gostou</p>	<p><b>O que pode ser melhorado?</b> Funcionalidades/características que você sentiu dificuldade ou não gostou</p>
 <p><b>Protótipo</b> Descrição do protótipo (características e funcionalidades)</p>	 <p><b>Questões em aberto</b> Questionamentos que o protótipo por si só não foi capaz de responder ou gerou dúvida</p>	 <p><b>Ideias complementares</b> Novas sugestões que complementam a solução e podem ser exploradas</p>

Figura 1. Matriz de feedback do protótipo utilizada em metodologia de *design thinking*.

No segundo momento, ocorreu um trabalho em equipe, como uso da metodologia de *visual thinking* (SIBBET, 2015). Os participantes foram divididos em três grupos para construir a solução. Cada grupo desenhou sua visão de solução ideal em uma cartolina que representava uma tela de celular, para cada um dos protótipos (Figura 2). Simultaneamente a este trabalho em grupo, os pesquisadores do projeto avaliaram a matriz de feedback feita pelos participantes para analisar as melhorias que podem ser implementadas nas soluções que estão em construção no projeto.

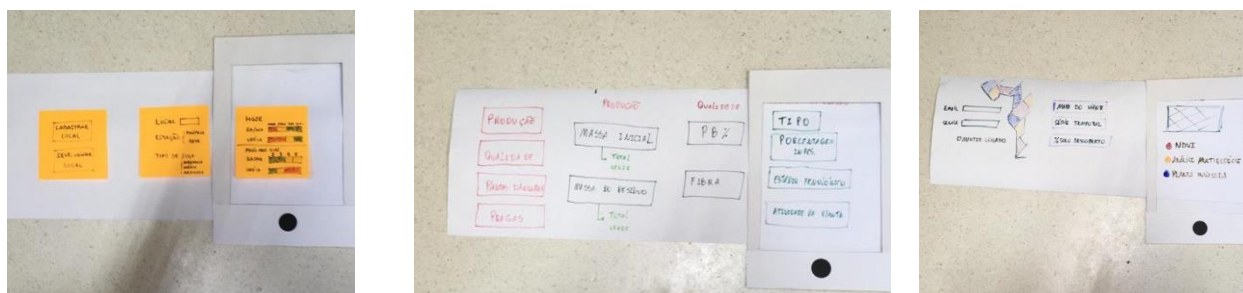


Figura 2. Trabalhos dos grupos com soluções sobre os protótipos ideais.

### 3. Resultados e Discussão

A equipe de pesquisa do projeto analisou as demandas que surgiram e, em nove dias, definiu quais funcionalidades são possíveis de serem implementadas nas ferramentas, conforme listado abaixo:

a) Ferramenta ligada à adubação de pastagens: funcionalidade para incluir dados meteorológicos da propriedade (pelo menos chuva), deixar objetivos do sistema mais claros para não gerar expectativas sobre recomendação de doses, escolha das estações deve ser melhorada (ex.: possibilidade de mudar o ponto de localização no *google earth*; possibilidade de inserir coordenadas), inserção de funcionalidade para ajudar o cliente a identificar seu tipo de solo (ex.: campo para o cliente colocar dados de análise física e o sistema apontar o tipo de solo ou estimar dados necessários para o balanço, demanda para incluir também insumos orgânicos nas recomendações, a recomendação deve ser feita para uma janela de tempo e não apenas pontualmente, inserir cadastro de usuário para receber alertas diários das condições, melhorar a justificativa da recomendação, inclusive dando ideia do nível de perdas esperado e inserção de histórico para armazenamento das consultas).

b) Sistema que utiliza imagens de satélite para calcular o volume de biomassa nos pastos: inserir informações dos piquetes (espécie, tipo de solo), adicionar nível de infestação das pastagens, adicionar novos/outros índices e possibilitar a comparação de valores entre forragens.

c) Protótipo com uso de drones para o manejo de pastagens: escolher unidades de medida de forragem, ter um programa para automatizar o voo, definição de imagens para período das águas e para período seco, possibilidade de cadastrar fazenda para importação de dados, associar funcionalidade de adubação e manejo.

### 4. Conclusões

A possibilidade de testar funcionalidades durante a execução do projeto, com a pesquisa ainda no campo, permitiu ao grupo de pesquisadores fazer ajustes nas atividades que estão ocorrendo para implementar a solução de acordo com a demanda dos clientes. Com isso, se reduz riscos de finalizar um produto e lançar no mercado sem ter antes testado as possibilidades e ganha-se tempo construindo o caminho para desenvolver a melhor solução para o cliente. A partir da aprendizagem validada com os *stakeholders* do projeto, foi possível perceber que é necessário adequar funcionalidades nas soluções que estão sendo construídas para o cliente. Será necessário realizar ajustes para se chegar a um produto atraente e competitivo para o mercado. A equipe de pesquisa do projeto analisou as demandas que surgiram e, em nove dias, definiu quais funcionalidades são possíveis de serem implementadas nas ferramentas.

O Pidoco mostrou-se uma ferramenta ágil para testes e iterações rápidas com os *stakeholders*. Os protótipos foram desenvolvidos em cinco dias. O resultado dos testes ocorreu em tempo real e foi sistematizado em três dias. As melhorias sugeridas foram implementadas na ferramenta Pidoco em dois dias. No total, em 10 dias foi possível testar protótipos durante a execução do projeto e ajustar as ações para construir soluções alinhadas às necessidades do mercado. Com isso, o protótipo com as novas funcionalidades implementadas será testado com cerca de 400 *stakeholders* do Portfólio de Pastagens da Embrapa. Este novo ciclo de construir-

medir-aprender deve trazer novo aprendizado validado a partir do *feedback* dos clientes.

Nessa relação ganha-ganha os *stakeholders* são informados sobre os passos realizados pelo projeto de forma customizada, em um processo de aprendizagem e descoberta conjunta. O relacionamento tem se fortalecido a cada interação e as melhorias implementadas nos resultados a partir das necessidades apontadas pelo cliente aumentam a possibilidade de adoção dos produtos que serão resultado do Pecuária do Futuro. Um caminho de cocriação e fortalecimento do ecossistema na área de pastagens.

### **Agradecimentos**

22.16.05.021.00.00 - Pecuária do futuro: ferramentas de suporte à tomada de decisão no manejo e transferência de tecnologias para pastagens

### **Referências**

- BLANK, S. The Four Steps to the Epiphany Successful Strategies for Products that Win. K&S Ranch, 2nd edition. Eisenmann, 2005.
- BOJER, M. M. Mapeando diálogos: ferramentas para a mudança social. Rio de Janeiro: Instituto Noos, 2010. p.130-138.
- COOPER, B; VLASKOVITS, P. The Entrepreneur's Guide to Customer Development: A cheat sheet to The Four Steps to the Epiphany. p. 27 - 60
- RIES, E. A startup enxuta: como os empreendedores atuais utilizam a inovação contínua para criar empresas extremamente bem-sucedidas; [tradução Texto Editores]. – São Paulo : Lua de Papel, 2012. p 15 - 30.
- SANTOS, P. M. et al. Cenários agrícolas futuros para pastagens no Brasil. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2014. 39 p. (Embrapa Pecuária Sudeste.Documentos, 114).
- SANTOS, P. M.; et al. Prospecção de demandas tecnológicas: interação 'clima x pasto'. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2016. 50 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Documentos, 123).
- TAKADA, C.; BELOTTI, M. Engajamento com stakeholders: manual para implementação. São Paulo, SP: Takao Consultoria, 2013.
- VIANNA, M [et al.]. Design thinking : inovação em negócios | Rio de Janeiro :MJV Press, 2012.

**INFLUÊNCIA DA TEXTURA DO SOLO NO ÍNDICE DE HUMIFICAÇÃO OBTIDO POR FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER EM AMOSTRAS DE SOLO**Vitor S. Freitas<sup>1,2,\*</sup>, Carlos M. P. Vaz<sup>2</sup>, Débora M. P. B. Milori<sup>1</sup><sup>1</sup> Instituto de Química de São Carlos-IQSC/USP, Avenida Trabalhador São Carlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: silveirafreitas@usp.br

**Resumo:** A análise de solos é importante para o manejo correto, na aplicação de fertilizantes, corretivos e pesticidas, visando o aumento de produtividade e economia de insumos. A agricultura de precisão (AP) com o manejo sítio-específico se enquadra nesse quesito, demandando grande número de análises de solo tanto da fertilidade, quanto da qualidade física, química e biológica. A técnica de Fluorescência Induzida por Laser (FIL) permite a determinação do índice de humificação (HFIL) da matéria orgânica do solo, sendo assim de interesse para o mapeamento da qualidade do solo com o enfoque em AP. Nesse trabalho um total de 836 amostras de solo de diferentes localidades foram analisadas pela técnica de FIL, consistindo de 519 amostras de diversas fazendas produtoras de algodão no Mato Grosso, 67 amostras de um talhão de cana-de-açúcar em Ibaté-SP, 180 amostras de um talhão de soja/milho em Campo Mourão-PR e 70 amostras de um talhão de algodão/soja/milho em Pedra Preta-MT. Os valores de HFIL obtidos foram correlacionados com os teores de areia, silte e argila. Dentre os locais analisados o talhão de Ibaté apresentou a melhor correlação entre HFIL e o teor de areia ( $r^2=0,59$ ) seguido do talhão de Campo Mourão ( $r^2=0,53$ ), do Mato Grosso ( $r^2=0,31$ ) e de Pedra Preta ( $r^2=0,02$ ). Nos talhões analisados, onde estão sendo aplicados os conceitos de AP, foram obtidos mapas do HFIL, os quais serão posteriormente correlacionados com outros indicadores e com mapas de produtividade das culturas.

**Palavras-chave:** agricultura de precisão, índice de humificação, textura do solo

***INFLUENCE OF SOIL TEXTURE ON THE HUMIFICATION INDEX OBTAINED BY LASER INDUCED FLUORESCENCE IN SOIL SAMPLES***

**Abstract:** The soil analysis is important for the correct management, with the application of fertilizers, lime and pesticides, aiming to increase the productivity and save inputs. Precision agriculture (PA) with site-specific management demands large number of soil analysis on fertility and on the soil physical, chemical and biological quality. The Laser Induced Fluorescence (LIF) technique determines the soil organic matter humification index (HLIF) that is very useful for mapping the soil quality in a PA approach. In this study, 836 soil samples of various locations were analyzed by LIF, consisting of 519 samples of several cotton farms in Mato Grosso, 67 samples in a sugar-cane area in Ibaté-SP, 180 samples in a soybean/corn production area in Campo Mourão-PR and 70 samples in a cotton/soybean/corn area in Pedra Preta-MT. The area of Ibaté presented the best correlation between HLIF and sand content ( $r^2=0.59$ ) followed by the area of Campo Mourão ( $r^2=0.53$ ), of Mato Grosso ( $r^2=0.31$ ) and Pedra Preta ( $r^2=0.02$ ). In the studied areas where the concept of PA have been applied, HFIL maps were obtained and will be further correlated with several other indexes including yield maps.

**Keywords:** precision agriculture, humification index, soil texture

**1. Introdução**

A Agricultura de Precisão (AP) é um sistema de gerenciamento agrícola baseada na variabilidade espacial e temporal da unidade produtiva, utilizado com objetivo de maximizar o

retorno econômico com maior sustentabilidade e menor impacto ambiental (MINISTERIO, 2012). Assim, é um processo que necessita de grande quantidade de dados georreferenciados de um cultivo agrícola. A análise de solos é importante para o manejo correto, na aplicação de fertilizantes, corretivos e pesticidas, visando o aumento de produtividade e economia de insumos. Com aumento do tamanho das lavouras e intensa mecanização, monitorar as variáveis de campo sem o desenvolvimento de novas tecnologias tornou-se cada vez mais difícil (Stafford, 2000). A AP com manejo sítio-específico das áreas agrícolas se enquadra nesse quesito.

Milori et al. (2006) propuseram um método para a determinação do grau de humificação da matéria orgânica dos solos (MOS) pela medida da Fluorescência Induzida por Laser (FIL) em pastilhas de solo prensado, sem a necessidade de extração química. A excitação da matéria orgânica por laser na região espectral do azul coincide com o perfil de absorção de moléculas mais rígidas e complexas das substâncias húmicas (aromáticos e compostos heterocíclicos). Assim foi proposto um índice de humificação (HFIL), onde a área espectral de fluorescência (AFIL) é dividida pelo carbono total do solo (Ct):  $HFIL=AFIL/Ct$ . A maioria dos estudos utilizando essa técnica em solos têm sido realizados para mostrar alterações na qualidade da MOS em diferentes sistemas de manejo e sua variação na profundidade (Trivet et al. 2013). Neste trabalho o HFIL é utilizado para avaliar a qualidade de solos coletadas em diferentes locais, texturas e sistemas de produção, com o objetivo de avaliar a correlação entre o HFIL e a textura dos solos, bem como sua utilidade para o mapeamento da qualidade do solo em unidades de produção onde os conceitos de AP são aplicados.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Áreas de estudo e preparo de amostras

Foram analisadas amostras de 4 localidades: 519 amostras de fazendas produtoras de algodão no estado do Mato Grosso, 67 amostras de um talhão em Ibaté-SP com cana-de-açúcar, 180 amostras de um talhão com milho em Campo Mourão-PR e 70 amostras de um talhão com soja em Pedra Preta-MT. As amostras foram secas em estufa à 40°C (evitando perda da MOS), por 24 horas. Posteriormente, foram separadas cerca de 10 g do solo seco, macerado com almofariz e pistilo e peneirado em peneiras de 150 mesh, para obtenção de uma granulometria fina e homogênea.

### 2.2. Análise de carbono total

Efetou-se a análise de carbono total nas amostras de solo utilizando um analisador elementar PerkinElmer 2400 Series II. Cerca de 10 mg de solo fino e seco foram pesadas em cápsulas de estanho em duplicata. Durante o processo de análise as amostras passam por um tubo de combustão que é rico em oxigênio (O<sub>2</sub>) alcançando a temperatura de 925°C e seguem para o tubo de redução, onde os catalizadores presentes asseguram que todo o metano (CH<sub>4</sub>) presente seja convertido a dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), que é medido por um detector de condutividade térmica.

### 2.3. Análise de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

As medidas de FIL foram realizadas em pastilhas de solo obtidas por prensagem em prensa hidráulica para aquisição dos espectros de emissão de fluorescência. Para cada solo, duas pastilhas foram utilizadas, sendo as análises realizadas nas duas faces planas das pastilhas. Os espectros foram adquiridos por um sistema FIL portátil, com laser de diodo de emissão em 405 nm, potência máxima de 50 mW e cabo ótico composto por seis fibras óticas para a excitação da amostra, sistema de filtragem e miniespectrômetro de alta sensibilidade. A emissão da amostra é então decomposta através de uma grade de difração fixa e detectada por um arranjo de fotodiodos previamente calibrados. A informação espectral é obtida no intervalo 430-800 nm, com tempo de integração de 250 ms, número de médias espectrais de 5 e boxcar (suavização dos ruídos) igual a 3.

## 3. Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os dados de textura do solo (argila, silte e areia), carbono total, área de fluorescência e HFIL, com os valores mínimos, máximos, desvios padrão (DP) e coeficientes de

variação (CV%) para as 4 áreas de estudo.

Tabela 1. Valores mínimos, máximos, médios, desvios padrão (Dp) e coeficientes de variação (CV%) para as áreas amostrais.

Parâmetro	Mato Grosso					Campo Mourão-PR					
	min	máx	Média	DP	CV%	min	máx	Média	DP	CV%	
Argila %	4	79	47	18	40	Argila (%)	32	76	51	11	21
Silte %	0	31	7	5	76	Silte (%)	3	21	9	5	52
Areia %	7	91	46	21	45	Areia (%)	6	62	40	14	36
C <sub>t</sub> (g Kg <sup>-1</sup> )	6	40	24	6	27	C <sub>t</sub> (g Kg <sup>-1</sup> )	10	35	22	5	22
AFIL (u.a)	9836	162832	42204	19822	47	AFIL (u.a)	8171	18765	12141	2002	16
HFIL (u.a)	377	10011	1971	1249	63	HFIL (u.a)	268	1626	600	227	38

Parâmetro	Ibaté-SP					Pedra Preta-MT					
	min	máx	Média	Dp	CV	min	máx	Média	Dp	CV	
Argila (%)	28	50	43	5	12	Argila (%)	48	62	56	4	6
Silte (%)	11	32	20	4	22	Silte (%)	14	24	19	3	15
Areia (%)	23	60	38	8	21	Areia (%)	21	30	25	2	8
C <sub>t</sub> (g Kg <sup>-1</sup> )	9	19	13	2	18	C <sub>t</sub> (g Kg <sup>-1</sup> )	28	35	31	1	5
AFIL (u.a)	9257	15433	11136	1238	11	AFIL (u.a)	21152	30349	24964	2060	8
HFIL (u.a)	530	1629	888	240	27	HFIL (u.a)	637	996	797	78	10

DP: Desvio Padrão; CV%: Coeficiente de Variação; AFIL: Área do espectro de fluorescência

O índice de humificação pode ser utilizado para a estimativa da qualidade dos solos, onde o aumento do HFIL sugere que os mecanismos físicos de proteção do solo não são suficientes para proteger as frações lábeis da matéria orgânica. Assim, valores mais baixos de HFIL indicam que os mecanismos de agregação das partículas no solo protegem a matéria orgânica lábil levando a solos de melhor qualidade (Milori et al. 2006; Martins et al. 2011; Senesi et al. 2016; Trivet et al. 2013).

Dentre as 4 áreas analisadas, as amostras da área do Mato Grosso apresentam a maior variação da textura, com coeficientes de variação para argila e areia de 40% e 45%, respectivamente. Essa grande variação reflete o fato das amostras terem sido coletadas em diferentes fazendas produtoras de algodão distribuídas por todo o Mato Grosso. A segunda maior variação de textura foi para a área de Campo Mourão-PR (CV da areia de 36%) seguido da área de Ibaté-SP (CV da areia de 21%). Já a área de Pedra Preta apresentou uma pequena variação textural, com CV da areia de 8% apenas.

As Figuras 1 e 2 apresentam as correlações entre HFIL e os teores de areia para as 4 áreas estudadas. Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) obtidos foram de 0,31; 0,59; 0,42 e 0,02 para as áreas do Estado de Mato Grosso, Ibaté, Campo Mourão e Pedra Preta, respectivamente. Observa-se claramente que altas variações nos teores de areia causam altas variações nos HFIL, que podem ser observados pelos valores de  $R^2$  e também dos coeficientes angulares das correlações, que foram de 33,4; 23,1; 10,2 e 5,6 respectivamente.

As amostras da área de Ibaté, apresentaram dependência espacial da textura e do carbono total (Figuras 3a e 3b), obtidas por análise geoestatística. Verifica-se um aumento gradual no teor de argila e da MOS da base para o topo do mapa. A porcentagem de argila no solo variou de 28 a 50% e o teor de carbono total de 8,5 a 18,7 g Kg<sup>-1</sup> (Tabela 1). Nota-se também que a área de Ibaté apresentou menor teor de carbono total quando comparado aos outros 2 talhões onde aplica-se o conceito de AP (Campo Mourão-PR e Pedra Preta-MT). O HFIL na área de Ibaté variou de 530 a 1658 e quando correlacionado com o teor de areia no solo apresenta um  $R^2=0,59$  (Figura 1b). O aumento no  $R^2$  para as amostras de Ibaté quando comparado às amostras do Mato Grosso (Figura 1a:  $R^2=0,31$ ) evidencia a direta relação entre a textura e humificação da MOS, quando se passa de um tratamento com amostras de diferentes localidades (Mato Grosso) para amostras especializadas em um único talhão. O mesmo comportamento pode ser observado para relação de areia e HFIL no talhão de de Campo Mourão (Figura 2a), com  $R^2=0,42$ .



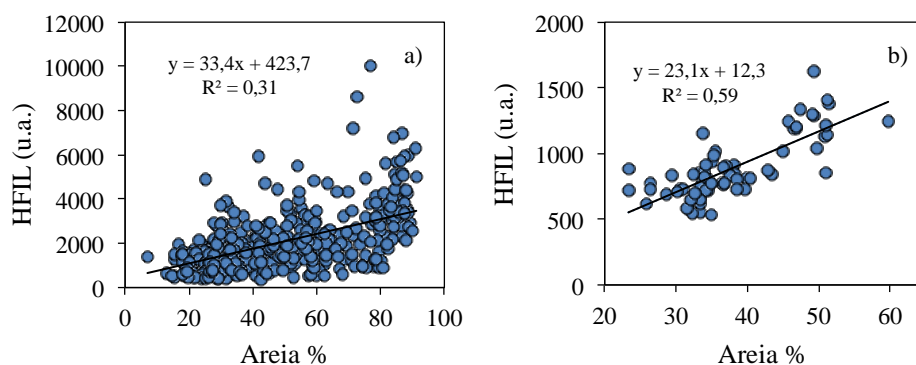


Figura 1. Correlação do HFIL com o teor de areia do solo para as amostras coletadas em diferentes locais no estado do MT (a) e no talhão de cana-de-açúcar em Ibaté-SP (b).

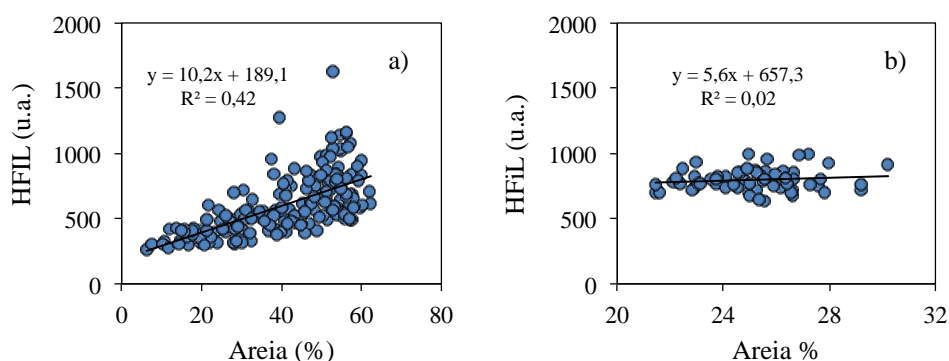


Figura 2. Correlação do HFIL com o teor de areia do solo no talhão de milho em Campo Mourão-PR (a) e no talhão de soja em Pedra Preta-MT (b).

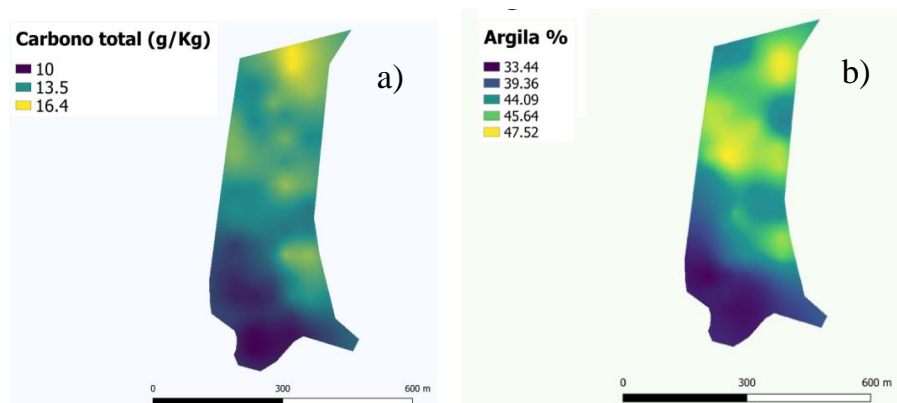


Figura 3. Mapas de distribuição espacial para carbono total (a) e porcentagem de argila no solo (b) do talhão de cana-de-açúcar em Ibaté-SP.

As amostras da área de Pedra Preta-MT apresentam a menor variação de textura entre as 4 áreas estudadas, sendo uma área majoritariamente argilosa variando de 42 a 62% de argila (CV= 6%) e com a maior média de carbono total (31 g Kg<sup>-1</sup> e CV= 5%). A pequena variação de textura e carbono total dentro desse talhão reflete na menor variação do índice de humificação desta área tendo máximo de 996 e mínimo 637, sendo o menor CV entre as áreas estudadas (CV= 10%). Quando relacionado o HFIL com a porcentagem de areia no solo obtém-se um R<sup>2</sup>=0,02 (Figura 2b).

Estes resultados estão de acordo com Favoretto et al. (2008), onde demonstraram que a fração argila (< 2 µm) do solo apresentam menores valores de humificação e também com Martins et al. (2011) que conduziram um estudo em três sistemas (plantio convencional, plantio direto e plantio reduzido) e observaram que o HFIL na fração areia apresentava valores mais elevados quando comparado com as fração argila, independentemente do tipo de sistema adotado.

#### 4. Conclusões

Os mecanismos físicos de proteção da matéria orgânica no solo influenciam na disponibilidade da matéria orgânica e carbono no sistema, sendo cruciais na avaliação da qualidade dos sistemas agrícolas. Quando estudadas áreas onde é adotado o conceito de agricultura de precisão, é possível notar uma melhor relação entre HFIL e textura do solo. Através da técnica de FIL é possível verificar que a textura do solo está ligada diretamente com o índice de humificação: quanto maior a porcentagem de areia no solo, maior o valor absoluto do HFIL. Os dados de HFIL obtidos para as 3 áreas de AP serão posteriormente correlacionados com dados de produtividade das respectivas culturas, para se avaliar o efeito prático do HFIL como indicador da qualidade do solo na produtividade.

#### Agradecimentos

Embrapa (projeto 41.14.09.001.00), CAPES (projeto 15/2004-223), CNPq (projeto 312282/2017-6), Célia Regina Grego, Júlio Franchini, Rafael Galbieri, Grupo Sementes Petrovina.

#### Referências

- CAMBARDELLA, C. A.; MOORMAN, T. B.; NOVAK, J. M.; PARKIN, T. B.; KARLEN, D. L.; TURCO, R. F.; KONOPKA, A. E. Field-Scale Variability of Soil Properties in Central Iowa Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, v.58, p.1501-1511, 1994
- FAVORETO, C.M.; GONÇALVES, D.; MILORI, D.M.P.B.; ROSA, J.A.; LEITE, W.C.; BRINATTI, A.M.; SAAB, C. Determinação da humificação da matéria orgânica de um latossolo e de suas frações organo-minerais, *Quim. Nova*, v.31, n.8, 1994-1996, 2008
- MARTINS, T.; SAAB, S.C.; MILORI, D.M.P.B.; BRINATTI, A.M.; ROSA, J.A.; CASSARO, F. A.M.; PIRES, L.F. Soil organic matter humification under different tillage managements evaluated by Laser Induced Fluorescence (LIF) and C/N ratio, *Soil & Tillage Research*, v.111, p.231-235, 2011
- MILORI, D.M.P.B.; 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 Sci. Soc. Am. J.*, v.70, p.57-63, 2006
- MINISTÉRIO da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 852 - Art. 1º Criar a Comissão Brasileira de Agricultura de Precisão – CBAP. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 21 set. 2012. Seção 1, n.184. Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do42.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do42.htm)>.
- OLIVEIRA, R. P.; GREGO, C. R.; BRANDÃO, Z. N. *Geoestatística aplicada na agricultura de precisão utilizando o Vesper*, Triunfal Gráfica & Editora, Brasília, p.59, 2015
- STAFFORD, J. V. Implementing precision agriculture in the 21st Century. *Journal of Agricultural Engineering Research*, v.76, n.3, p. 267-275, 2000
- SENESE, G. S.; MARTIN-NETO, L.; VILLAS-BOAS, P.; NICOLODELLI, G.; MILORI, D. M. B. P. Laser-based spectroscopic methods to evaluate the humification degree of soil organic matter in whole soils: a review, *Journal of Soils and Sediments*, v.18, n.4, p.1292-1302 2018
- SINFELD, J. V.; FAGERMAN, D.; COLIC, O. Evaluation of sensing technologies for on-the-go detection of macro-nutrients in cultivated soils. *Computers and electronics in agriculture*, v.70, p.1-18, 2010
- TRIVET, F.; MORAES SÁ, J.C.; LAL, R.; MILORI, D.M.B.P.; BRIEDIS, C.; LETOURMY, P.; PINHEIRO, L.A.; BORSZOWSKA, P. R.; HARTMAN, D.C. Assessing humification and organic C compounds by laser-induced fluorescence and FTIR spectroscopies under conventional and no-till management in Brazilian Oxisols, *Geoderma*, v.207-208, p.71-81, 2013

**SISTEMA LIBS EMBARCADO PARA APLICAÇÕES AGRONÔMICAS.  
IMPLEMENTAÇÃO DO SISTEMA DE DISPARO DOS PULSOS LASER**Manuel Cerna Larenas<sup>1,\*</sup>, Daniel Varela Magalhães<sup>2</sup>, Débora Milori<sup>3</sup><sup>1</sup> Universidad de La Frontera, Av. Francisco Salazar, 01145, Temuco, Chile<sup>2</sup> Universidade de São Paulo, Av. Trabalhador São Carlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP, Brasil<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13561-206, São Carlos, SP, Brasil

\* Autor correspondente, e-mail: manuel.cerna@ufrontera.cl

**Resumo:** A espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS, do inglês), é uma técnica óptica para realizar análise química de uma amostra. Mediante um laser pulsado muito focalizado, gera-se um pequeno plasma que fornece informação dos elementos constituintes da amostra. Uma das vantagens do LIBS é a opção de fazer análises *in situ* de amostras sem preparo. Para aproveitar esta grande potencialidade da técnica, existe uma parceria entre a Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC-USP) e a Embrapa Instrumentação, que visa o desenvolvimento de um rover com a capacidade de realizar análise LIBS de forma autônoma. Assim, neste trabalho apresenta-se o desenvolvimento de um instrumento LIBS para ser embarcado no rover. O Sistema de disparo foi projetado, modelado e implementado para fazer análise no solo, trabalhando autonomamente sobre o rover. Os testes do sistema proposto mostraram que é possível focalizar adequadamente os pulsos laser sobre uma amostra para gerar plasma espectroscopicamente útil.

**Palavras-chave:** LIBS à distancia, Agricultura de Precisão.

**STAND-OFF LIBS FOR AGRICULTURAL APPLICATIONS.  
SHOOTING SYSTEM IMPLEMENTATION**

**Abstract:** Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) is an optical technique for performing chemical analysis of a sample. Using a highly focused pulsed laser, a small plasma is generated that provides information on the elements of the sample. One of the advantages of LIBS is the option to perform *in situ* analysis of unprepared samples. To take advantage of this great potential of the technique, there is a partnership between EESC-USP and Embrapa Instrumentation, which aims to develop a rover with the ability to perform LIBS analysis in autonomous form. Thus, this paper presents the implementation of a part of the LIBS instrument to be embedded in the rover. The Shooting System was designed, modeled and implemented for soil analysis, working autonomously on the rover. System tests have shown that it is possible to properly focus laser pulses on a sample to generate spectroscopically useful plasma.

**Keywords:** stand-off LIBS, precision agriculture.

**1. Introdução****1.1. Técnica LIBS**

LIBS (*Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*) ou Espectroscopia de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Laser, é uma técnica óptica para obter informação da composição química elementar de uma amostra. Esta metodologia utiliza um laser de alta potência muito bem focalizado sobre a superfície do alvo para excitar energeticamente os componentes atômicos da amostra, para assim obter os sinais espectrais emitidos e conseguir a informação qualitativa e quantitativa de uma amostra após seu processamento. Atualmente, LIBS é uma importante técnica especialmente útil para análises da composição elementar sobre um amplo número de elementos químicos da amostra.

(ANABITARTE et al., 2012). LIBS também se destaca pela capacidade de trabalhar em campo, dado que é uma técnica rápida e os equipamentos são comparativamente simples e compactos, permitindo a obtenção de sistemas portáteis. Isso gera a potencialidade de uma grande quantidade de aplicações frente a outros métodos analíticos (CREMERS et al., 2009). Um sistema LIBS típico de bancada está composto de três etapas principais: sistema de disparo, sistema de coleta, e sistema de sincronização, controle e processamento.

### 1.2. LIBS à distância

O LIBS à distância, ou *stand-off* (SALLÉ et al., 2007) são instrumentos onde tanto os pulsos laser geradores de plasma na amostra, quanto a luz emitida pelo plasma, propagam-se através do ar; assim estes instrumentos ficam fisicamente separados da amostra, até centenas de metros, ver figura 1. Os pulsos e os sinais do plasma são dirigidos e coletados usualmente por algum tipo de telescópio. É muito útil para alvos fisicamente inacessíveis, mas com linha de visão, ou em ambientes perigosos ou inadequados para pessoas ou equipamentos. Esses sistemas podem analisar rapidamente uma grande área, fazendo uma varredura, e precisam sempre de um sistema de disparo capaz de gerar um plasma útil a distância, além de um sistema de coleta suficientemente sensível.

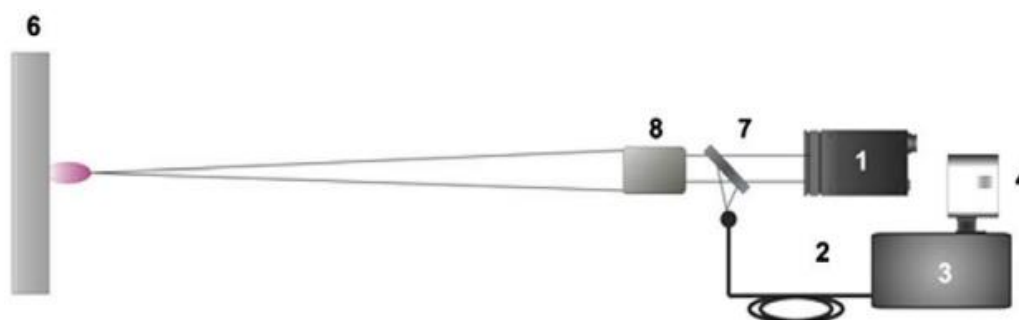


Figura 1. Configurações para um sistema LIBS à distância. O sistema fica longe da amostra, os pulsos laser e os sinais LIBS viajam através do ar. 1: Laser, 2: Fibra óptica, 3: Espectrômetro, 4: Detector, 5: Focalizador, 6: Amostra, 7: Espelho dicróico, 8: Telescópio. FORTES et al., 2010.

### 1.3. Módulo LIBS - rover Mira II

O Sistema LIBS está projetado para se montar sobre uma plataforma robótica móvel (ou rover) encarregada de transportá-lo no campo para fazer a análise do solo, ver a figura 2. Assim, dado que a configuração opto-mecânica do sistema LIBS permite sua construção, ajuste e testes iniciais independentemente do rover, é denominado de “Módulo LIBS”.

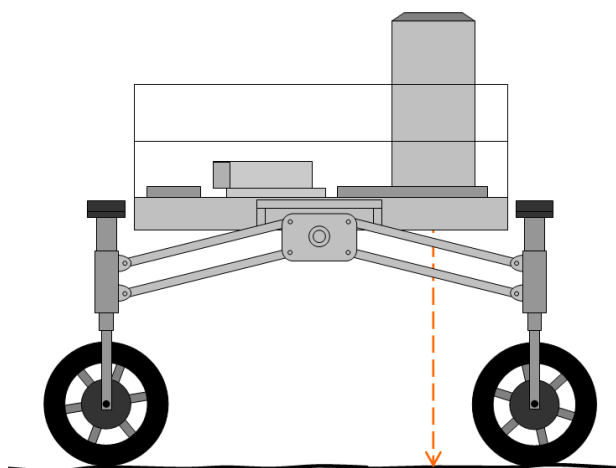


Figura 2. Aspecto geral do Módulo LIBS montado sobre o rover Mirã II, em Desenvolvimento no Laboratório de Robôs Moveis da EESC-USP. CERNA, 2019.

As diversas partes do Módulo LIBS à distância desenvolvido podem ser agrupadas funcionalmente em quatro subsistemas principais: Sistema de coleta do sinal LIBS à distância; Sistema de disparo do pulso laser; Análise, controle e sincronização; e Energia. O Sistema de disparo, encarregado de gerar e transmitir o sinal de energia sobre a amostra, possui como componentes essenciais um laser pulsado de grande potência e um sistema de lentes e espelhos para projetar o laser focalizado sobre o alvo.

## 2. Materiais e Métodos

O requerimento principal para o Sistema de disparo é produzir uma irradiância mínima de  $1 \text{ GW/cm}^2$  na superfície da amostra, para assim gerar um plasma útil. Na prática, essa condição é atingida minimizando a área irradiada pelo pulso laser.

O Sistema de disparo simplificado é esquematizado na figura 3, mostrando também o importante conceito de raio mínimo do feixe, ou cintura do feixe ( $2\omega_0$ : *waist beam*).

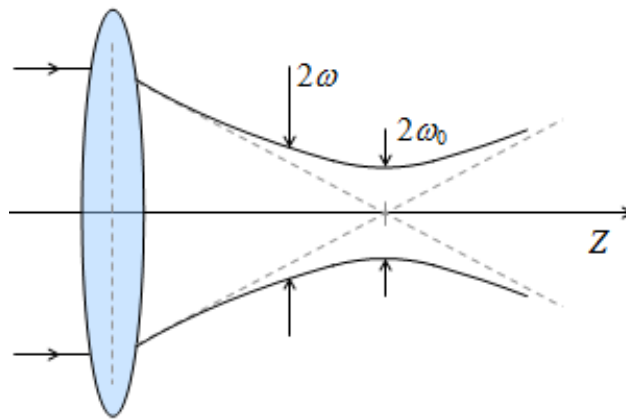


Figura 3. Focalização utilizando uma lente convergente simples.  $2\omega$  denota o diâmetro do feixe em uma posição ao longo do eixo Z qualquer. O  $\omega_0$  corresponde ao rádio mínimo do feixe, também chamada de cintura do feixe. CERNA, 2019.

Quando utilizada uma lente esférica para fazer uma focalização de uma onda com perfil gaussiano, o raio do feixe é dado pela equação 1, onde,  $\omega_{in}$  é o raio do feixe da onda plana incidente na lente ou espelho,  $f$  é a distância focal do elemento utilizado, e  $\lambda$  é o comprimento de onda do sinal.

$$\omega_0 = \frac{\lambda f}{\pi \omega_{in}} \quad (1)$$

No sistema desenvolvido, tanto a distância focal  $f$ , quanto o comprimento de onda do sinal óptico utilizado são fixas, portanto, não podem ser ajustadas para minimizar o valor de  $\omega_0$ . Então deve-se aumentar o raio do feixe incidente  $\omega_{in}$  no sistema de focalização, utilizando um expensor de feixe, diminuindo em relação inversa o  $\omega_0$  obtido. O software GaussianBeam foi usado para ajustar o Sistema de disparo às características reais do laser e lentes utilizados e aos espaços e distâncias disponíveis.

O sistema de disparo que foi implementado finalmente, é mostrado na figura 4. O percurso do feixe desde o laser até o espelho E2 é uns 800 mm. A distância entre a superfície inferior da plataforma e a amostra é 700 mm aproximadamente. O ajuste da posição do plano de focalização pode ser feito facilmente mudando a posição axial da lente L1. Os dois espelhos planos foram montados sobre suportes ajustáveis permitindo assim o alinhamento com o Sistema de coleta.

Na simulação, obteve-se uma cintura do feixe ( $\omega_0$ ) sobre a amostra de aproximadamente  $120 \mu\text{m}$ , portanto a fluência (F) e irradiância (I) geradas na amostra podem-se estimar em  $F = 120 \text{ J/cm}^2$  e  $I = 12 \text{ GW/cm}^2$ , valores que estão sobre os níveis necessários para gerar o plasma LIBS.

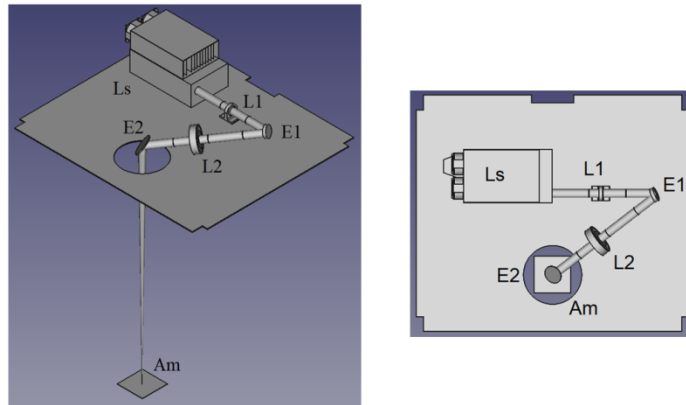


Figura 4. Disposição dos elementos do Sistema de disparo sobre a plataforma do rover Mirã II. Ls: Laser, L1: lente divergente -25 mm, L2: lente convergente +300 mm, E1 e E2: espelhos planos, Am: amostra. O pulso gerado pelo laser é expandido pela lente E1 e focalizado pela lente E2, os espelhos E1 e E2 dirigem o feixe até a amostra localizada no solo. CERNA, 2019.

### 3. Resultados e Discussão

Para os testes iniciais, o sistema projetado foi montado em uma mesa óptica e sobre o rover Mira II, figuras 5 e 6.

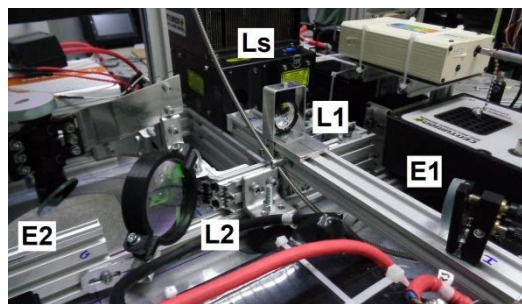


Figura 5. Vista do Sistema de disparo montado sobre a plataforma do Módulo LIBS. Ls: Laser, L1: lente divergente, L2: lente convergente, E1 e E2: espelhos planos. Elaborada pelos autores.

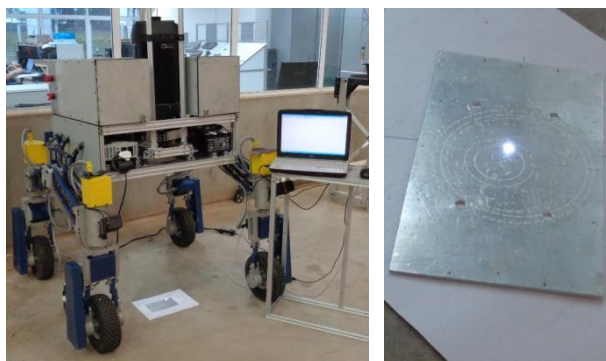


Figura 6. O rover com o Módulo LIBS gerando plasma sobre uma placa de alumínio posicionada no solo. CERNA, 2019.

A avaliação, apenas deste Sistema de disparo, foi feita analisando qualitativamente o plasma gerado em uma amostra de referência, neste caso uma placa de alumínio com uma fina camada de potássio sobre sua superfície. O tamanho do plasma, sua luminosidade, o som gerado pela onda de choque, além das marcas características que o laser fez na superfície da amostra, mostraram que o plasma foi gerado apropriadamente nestas condições. Por outro lado, uma avaliação quantitativa precisa de um Sistema de coleta, cuja implementação está além do escopo deste trabalho. Em condições de laboratório, quando utilizado um telescópio para coletar a sinal emitida pelo plasma,

observaram-se as sinais LIBS do duplete de potássio, tanto de uma amostra de alumínio, quanto de uma pastilha de solo. A figura 7 mostra exemplos de captura de tela dos espectros coletados. Portanto, os testes mostraram que o plasma gerado na amostra, contém sinais fatíveis de ser analisadas para obter informação química elementar.

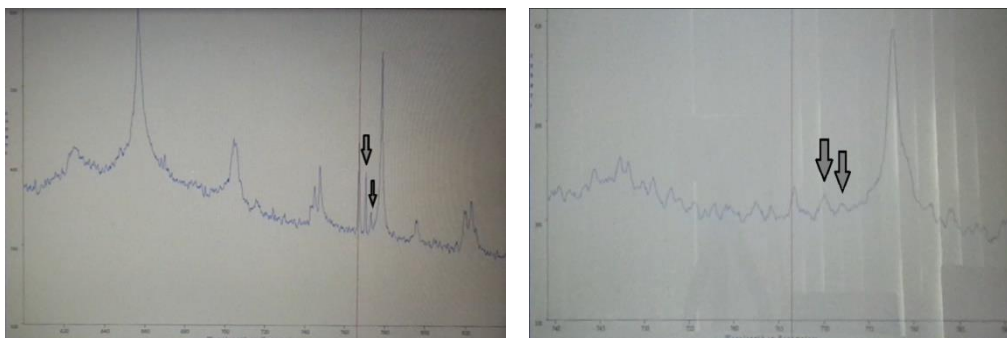


Figura 7. Captura de tela de um espectro LIBS de uma amostra de alumínio (esquerda), e de uma pastilha de solo (direita). As setas mostram os picos do duplete de potássio em 766.5 e 769.9 nm. Elaborada pelos autores.

Atualmente os sistemas de disparo e coleta de sinal estão em condições de ser testados sobre a plataforma Mirã II, porém, o rover ainda precisa de ajustes, mesmo que o sistema de processamento e controle do Módulo LIBS. Em trabalhos futuros espera-se concluir os subsistemas restantes, além de executar uma série completa de testes no sistema integrado Módulo LIBS - rover Mirã II.

#### 4. Conclusões

Foi desenvolvido um Sistema de disparo fatível de ser utilizado num sistema LIBS a distancia. O sistema obtido possui a capacidade de gerar plasma espectroscopicamente útil em uma amostra posicionada no solo, além de ser compacto para ser embarcado em um rover.

#### Agradecimentos

Projeto Embrapa 01.14.09.001.05.00. Agricultura de Precisão. CAPES, FAPESP, CNPq, USP.

#### Referências

- ANABITARTE, F.; COBO, A.; LOPEZ-HIGUERA, J.M. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: fundamentals, applications, and challenges. 2012. ISRN Spectrosc. <http://dx.doi.org/10.5402/2012/285240> (Article ID 285240).
- CERNA, M. Desenvolvimento de um sistema LIBS à distância embarcável para aplicações em campo. 111 p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Universidade de São Paulo, USP, São Carlos, 2019.
- CREMERS, D.A.; CHINNI, R.C. Laser-induced breakdown spectroscopy - capabilities and limitations. 2009. Appl. Spectrosc. Rev. 44, 457–506. <http://dx.doi.org/10.1080/05704920903058755>.
- B. SALLÉ; P. MAUCHIEN; and S. MAURICE. Laser induced breakdown spectroscopy in open-path configuration for the analysis of distant objects, Spectrochim. Acta, Part B 62,739 (2007).
- F. FORTES; J. LASERNA. The development of fieldable laser-induced breakdown spectrometer: no limits on the horizon, Spectrochim. Acta Part B 65 (2010) 975–990, <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2010.11.009>.

**TERMOGRAFIA DE SUPERFÍCIE POR SENSORIAMENTO REMOTO EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA-FLORESTA**

Nicolle Laurenti<sup>1,\*</sup>; Otávio de Almeida Bueno<sup>2</sup>, José Ricardo Macedo Pezzopane<sup>3</sup>; Alexandre Rossetto Garcia<sup>3</sup>; Alberto C. de Campos Bernardi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> UNICEP, São Carlos, SP, Brazil;

<sup>2</sup> CPG Ciências da Engenharia Ambiental – EESC USP, São Carlos – SP;

<sup>3</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

\* Autor correspondente, e-mail: nicollelaurenti2@gmail.com

**Resumo:** A compreensão da variabilidade no espaço e tempo das propriedades edáficas, climáticas e dos vegetais, nos diferentes sistemas produtivos, possui potencial para contribuir com o aumento da produtividade e qualidade, economia de insumos, e redução do impacto ambiental. Entre as técnicas que possibilitam esse conhecimento está o geoprocessamento de imagens oriundas de sensoriamento remoto. O objetivo deste trabalho foi comparar a variação da temperatura de superfície de sistemas de integração lavoura, pecuária e floresta (ILPF) a partir de imagens de monitoramento aéreo. A pesquisa foi realizada em uma área de estudo de 30 ha do sistema de ILPF, na Embrapa Pecuária Sudeste em São Carlos-SP. Foram geradas imagens de Termografia de Infravermelho (IRT) comparando os sistemas estudados. Os resultados indicaram diferenças espaço-temporais ao longo do período analisado na área estudada em função dos meses de observação. O monitoramento permitiu avaliar os benefícios do sistema ILPF na redução da temperatura da superfície, além disso os resultados confirmaram que IRT pode ser uma ferramenta auxiliar para os estudos de sistemas de produção agropecuária.

**Palavras-chave:** geoprocessamento, agricultura de precisão, mapeamento, termografia de superfície, sistemas integrados.

**REMOTE SENSING SURFACE THERMOGRAPHY OF A CROP-LIVESTOCK-FOREST INTEGRATED SYSTEM**

**Abstract:** Understanding the spatial and temporal variability of edaphic, climatic and plant properties in different production systems has the potential to contribute to increase productivity and quality, economy of inputs, and reduction of environmental impact. Among the techniques that enable this knowledge is the geoprocessing of images from remote sensing. The objective of this work was to compare the surface temperature variation of crop-livestock-forest integrated systems (CLFIS) from aerial monitoring images. Infrared Thermography (IRT) images were generated comparing the three studied systems; The results indicated spatiotemporal differences over the analyzed period in the studied area as a function of the months of observation. The monitoring allowed to evaluate the benefits of the CLFIS in the reduction of the surface temperature, besides the results confirmed that IRT can be a useful tool for the studies of agricultural production systems.

**Keyword:** geoprocessing, precision agriculture, mapping, surface thermography, integrated systems.

**1. Introdução**

O sistema de integração Lavoura, Pecuária e Floresta (ILPF) promove a intensificação do uso da terra e a busca de efeitos sinérgicos entre os componentes do agroecossistema de maneira sustentável, com o objetivo de atingir patamares elevados de qualidade de produto e qualidade ambiental (BALBINO *et al.*, 2011). É importante estudar as características e efeitos destes sistemas



integrados, e as ferramentas de agricultura de precisão (AP) são úteis para realização de análises espaço temporais.

Estas análises são realizadas a partir da coleta de dados de máquinas ou sensores, ou a partir de imagens de sensoriamento remoto, oriundos de veículos aéreos tripulados ou não tripulados, ou imagens de satélite, por exemplo. O desenvolvimento de equipamentos e os métodos de sensoriamento remoto possibilitam ampliar a capacidade de adquirir dados em tempo real e em larga escala no campo.

Segundo Filippini-Alba (2014), o sensoriamento remoto trata de medições sem contato físico entre o alvo e o sensor, permitindo o estudo da interação da radiação eletromagnética com os objetos terrestres, que podem gerar diversas análises. Os índices de vegetação e ambientais obtidos por sensoriamento remoto têm sido utilizados para estimar a biomassa vegetal e os efeitos dos estresses bióticos e abióticos, pois são indicativas das mudanças temporais e espaciais dos ecossistemas. Entre as técnicas destacam-se a termografia de superfície e os índices de reflectância. A termografia de superfície detecta o fluxo radiante de objeto emitido em comprimentos de onda entre 3-14  $\mu\text{m}$ , utilizando detectores de radiação infra-vermelha acoplados a plataformas orbitais ou aeronaves.

O objetivo deste trabalho foi comparar a variação da temperatura de superfície de sistemas de integração lavoura, pecuária e floresta (ILPF) a partir de imagens de monitoramento aéreo.

## 2. Material e métodos

O estudo foi realizado em área experimental (Figura 1) da Embrapa Pecuária Sudeste em São Carlos, Brasil (21°57'S, 47°50'W, 860 m alt). O sistema ILPF totaliza 30 ha e inclui os sistemas (PEZZOPANE et al., 2019): i) pastagem intensiva (INT) de capim Piatã (*Urochloa brizantha*); ii) Integração lavoura-pecuária (ILP), em que um terço da área é renovada anualmente plantando milho consorciado com capim Piatã; iii) integração floresta-pecuária-floresta (ILPF) plantado com *Eucalyptus urograndis* (GG100) em fileiras simples com espaçamento de 15 m e distância de 2 m entre árvores; iv) integração de pastagem-floresta (IPF), com capim Piatã e eucalipto; v) sistema extensivo (EXT) de capim braquiária (*Urochloa decumbens*). As pastagens são manejadas em sistema rotacionado com 6 dias de pastejo e 35 dias de repouso em épocas de chuvas e secas. Os piquetes são divididos com cercas elétricas em 6 subdivisões de 0,5 ha cada com 2 repetições.

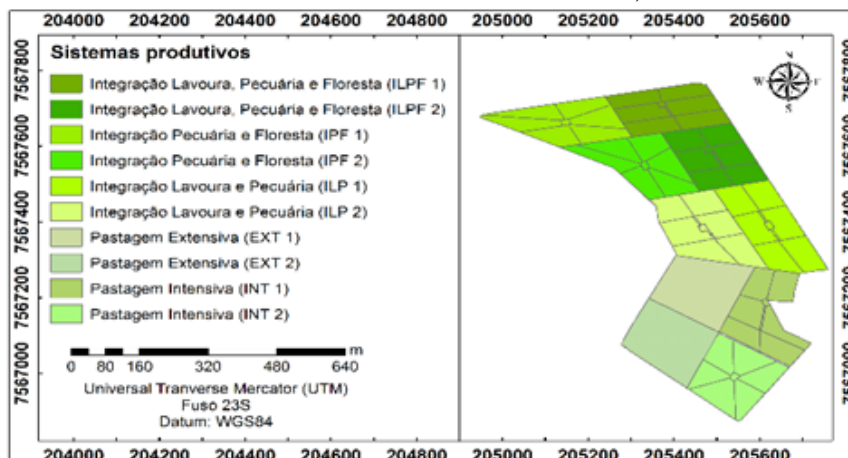


Figura 1. Localização da área de estudo, o sistema ILPF da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos - SP.

Foram utilizados dados georreferenciados de termografia de superfície coletados pela empresa Airscout®, por meio de sobrevoos com veículo aéreo a altura aproximada de 2.000 pés entre as 11h e 14h30. As datas das coletas estão a Tabela 1. Estes dados foram organizados em sistema de informação geográfica (SIG) e interpolados utilizando o software ArcGIS 10.5, por meio da técnica do vizinho ponderado (IDW) para obter um arranjo espacial contínuo das informações no local de estudo (AKKALA et al., 2010). A partir dos mapas de cada data amostrada, criou-se uma

malha de pontos padronizada para amostragem para cada área, de acordo com o seu tamanho, o qual foi utilizado como referencial de amostragem para extrair informações da mesma localidade em todas as imagens e, então calcular-se a média das temperaturas por estação.

Tabela 1. Datas de coleta das imagens de termografia de superfície nas estações do ano de 2018

Estações do ano			
Verão	Outono	Inverno	Primavera
11-01-18	06-04-18	06-09-18	12-10-18
27-01-18	22-04-18		09-12-18
05-02-18	07-05-18		
17-02-18			
12-03-18			
18-03-18			

Os valores obtidos foram organizados de acordo com as respectivas estações do ano, e estabeleceu-se 5 classes de temperaturas para comparação: 17 a 21,9°C; 22 a 26,9°C; 27 a 31,9°C; 32 a 36,9°C; e < 37°C. Calculou-se as frequências de ocorrência dos valores em cada classe utilizando o software LibreOffice Calc.

A partir dos polígonos interpolados, executou-se a aleatorização de pontos distribuídos uniformemente para criação da grade virtual do plano de informação, o qual foi utilizado como referencial de amostragem para extrair informações da mesma localidade em todas as imagens. Então utilizou-se a ferramenta *Create Random Points* do ArcGis10.5 para gerar uma grade virtual com 3.000 pontos aleatoriamente distribuídos e com coordenadas padronizadas, com a finalidade de exportar dados referente aos mesmos pontos para todas as datas e estações do ano.

### 3. Resultados e discussões

A Figura 1 mostra os mapas da termografia de superfície médias das áreas de ILPF, ILP, IPF, INT e EXT nas quatro estações do ano. As imagens mostram o efeito positivo da presença das árvores, pois na área de pastagem extensiva (EXT), as temperaturas tendem a ser mais elevadas, com redução nos sistemas ILPF e IPF. A estação da primavera apresentou as temperaturas de superfície mais extremas, provavelmente devido à ocorrência de poucas chuvas, e baixa água disponível no solo, associada com elevadas temperaturas do ar. Os mapas das médias das temperaturas de superfície nas estações foram gerados a partir dos mapas individuais de cada data de coleta (Tabela 1). Os dados de cada data geraram um mapa de temperatura, que depois em ambiente SIG foi possível gerar a "média" de cada estação, apresentada na Figura 2.

A Tabela 2 confirma esta tendência, uma vez que ao se comparar as classes de temperaturas dos sistemas há uma diferença, indicando um predomínio das temperaturas mais amenas no sistema ILPF. Os resultados na Tabela 2 indicaram que no Verão variaram de 22 a 26,9°C, no Outono de 22 a 31,9°C, no Inverno de 17 a 31,9°C e pôr fim a Primavera com valores acima de 32°C.

Tabela 2. Percentual de temperatura no sistema estudado.

Sistemas	Temperatura(°C)	Estações do ano			
		Verão	Outono	Primavera	Inverno
		% -			
ILPF	17 – 21,9	0,2	-	-	-
	22 – 26,9	99,8	75,2	-	73,8
	27 – 31,9	-	20,5	34	15,7
	32- 36,9	-	4,3	52,2	10,5
	≥ 37	-	-	13,8	-
ILP	17 – 21,9	2,5	-	-	7,5
	22 – 26,9	97,3	53,4	-	18,3
	27 – 31,9	0,2	34,5	0,2	71,6
	32- 36,9	-	12,1	41,6	2,4
	≥ 37	-	-	58,2	0,2
IPF	17 – 21,9	-	0,4	-	29,8
	22 – 26,9	100	93,3	-	60
	27 – 31,9	-	6,3	-	9,4
	32- 36,9	-	-	48,2	0,8
	≥ 37	-	-	51,8	-

EXT	17 – 21,9	-	-	-	0,4
	22 – 26,9	100	0,5	-	33,7
	27 – 31,9	-	99,5	0,4	65,9
	32- 36,9	-	-	33,3	-
	≥ 37	-	-	66,3	-
INT	17 – 21,9	-	-	-	2,9
	22 – 26,9	12,3	12,2	-	65,8
	27 – 31,9	87,3	87,2	-	31,1
	32- 36,9	0,4	0,6	48,8	0,2
	≥ 37	-	-	51,2	-

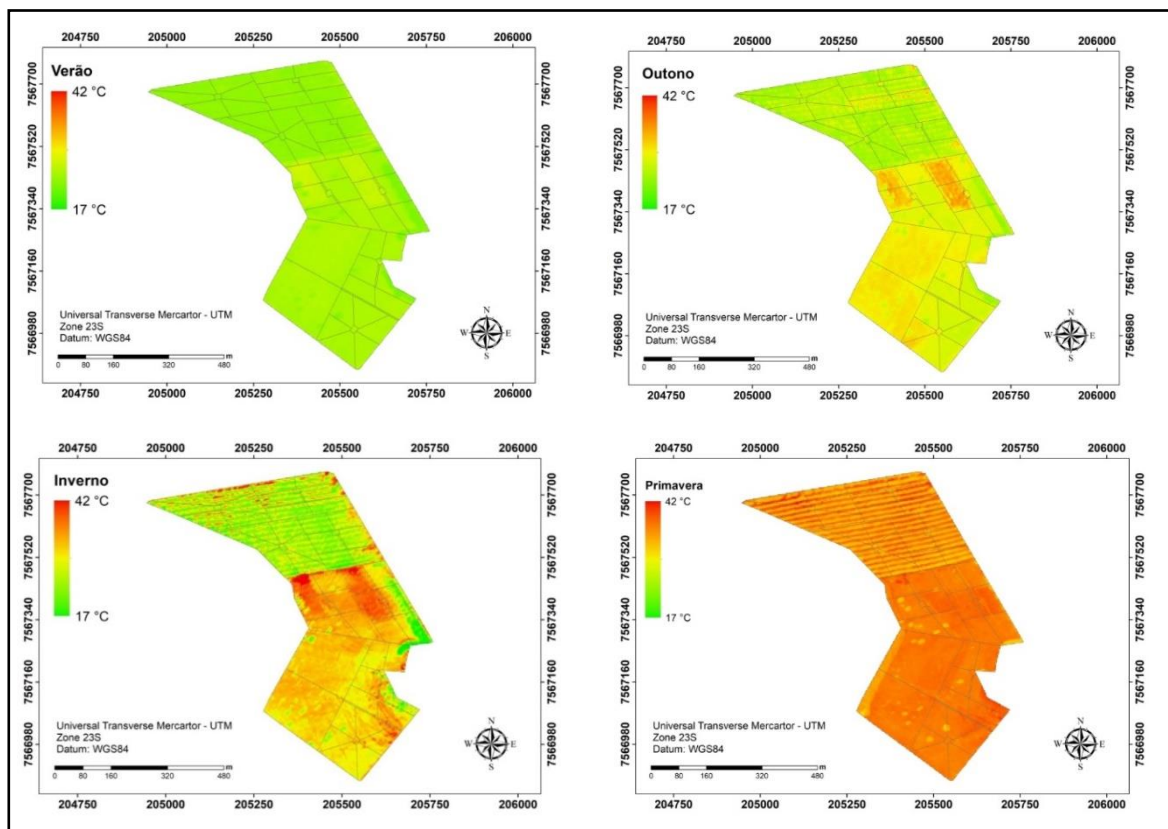


Figura 2. Mapas de termografia de superfície da área estudada em cada estação do ano.

#### 4. Conclusões

Os resultados indicaram diferenças espaço-temporais ao longo do período analisado na área estudada em função dos meses de observação. O monitoramento permitiu avaliar os benefícios do sistema ILPF na redução da temperatura da superfície, além disso os resultados confirmaram que IRT pode ser uma ferramenta auxiliar para os estudos de sistemas de produção agropecuária.

#### Agradecimentos

À Associação Rede ILPF e FAPESP (Processo 2019/04528-6) pelo suporte financeiro, à AirScout Brasil pelo fornecimento das imagens aéreas e ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica.

#### Referência

- AKKALA, A.; DEVABHAKTUNI, V.; KUMAR, A. Interpolation techniques and associated software for environmental data. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, Hoboken, v.29, n.2, p. 134-141, 2010.
- BALBINO, L. C.; BARCELLOS, A. de O.; STONE, L. F. (Ed.). **Marco referencial: integração lavoura-pecuária-floresta**. Brasília, DF: Embrapa, 2011. 130 p.
- FILIPPINI ALBA, J. M. Modelagem SIG em agricultura de precisão: conceitos, revisão e

aplicações. In: BERNARDI, A. C. C.; NAIME, J. M.; RESENDE, A. V.; BASSOI, L. H.; INAMASU, R. Y. (Ed.). **Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. p. 84-95.

PEZZOPANE, J. R. M.; BERNARDI, A. C. de C.; BOSI, C.; OLIVEIRA, P. P. A.; MARCONATO, M. H.; PEDROSO, A. de F.; ESTEVES, S. N. Forage productivity and nutritive value during pasture renovation in integrated systems. **Agroforestry Systems**, v.93, p.39-49, 2019.

**DESEMPENHO DE SENSORES ELETRÔNICOS NA MEDIÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-HÍDRICOS DO SOLO E VARIÁVEIS FÍSICO-CLIMÁTICAS**

Emily A. Leite<sup>1,\*</sup>, Lucas Assad Crudo<sup>2</sup>, Ismael Meurer<sup>1</sup>, Thais G. P. Avancini<sup>2</sup>, Gustavo de C. Carvalho<sup>2</sup>, Jarbas H. de Miranda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ESALQ/USP, Av. Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, São Paulo

<sup>2</sup> Centro Universitário FACENS, Rodovia Senador. José Ermírio de Moraes, 1425, CEP 18087-125, Sorocaba, SP

\* Autor correspondente, e-mail: emily.leite@usp.br

**Resumo:** A utilização de sensores eletrônicos é parte da nova era da agricultura digital, tornando-se possível, dentre outros, a obtenção de valores de umidade do solo e temperatura do solo, possibilitando seu registro de leituras em tempo real e em curtos intervalos de tempo. Devido à essa facilidade, torna-se possível verificar, detalhadamente, a dinâmica da água no solo, bem como, avaliar também flutuações de valores de temperatura do solo. Diante disso, o objetivo da pesquisa foi avaliar a performance de sensores eletrônicos no monitoramento da umidade do solo e outras variáveis climáticas, tais como: temperatura do ar e umidade relativa do ar e comparar com a metodologia padrão. Diante dos resultados obtidos pôde-se observar que o desempenho do sensor eletrônico foi considerado satisfatório diante dos valores obtidos quando comparados com a metodologia padrão e dessa forma, demonstrando confiabilidade em sua utilização.

**Palavras-chave:** umidade do solo, umidade do ar, temperatura do solo, temperatura do ar, agricultura digital.

***PERFORMANCE EVALUATION OF ELETRONIC SENSORS IN THE MEASUREMENT OF SOIL PHYSICAL-WATER PARAMETERS AND PHYSICAL-CLIMATIC VARIABLES***

**Abstract:** The use of electronic sensors is already a part of the new era of digital agriculture, making possible even the obtainment of soil moisture and temperature values, with real time recordings in short periods of time. Due to this facility, it allows to verify a detailed evolution of soil water dynamics behavior, as well as to evaluate daytime fluctuations of soil temperature values. Therefore, the objective of this research was to evaluate the performance of electronic sensors in monitoring soil moisture and other physical parameters such as air temperature and relative humidity and compare with the standard methodology. Accordingly, to the results, the performance found by the electronic sensor was satisfactory, faced with the obtained values it showed accuracy in the data provided and thus demonstrating reliability in its use and purpose of use.

**Keywords:** soil humidity, air humidity, soil temperature, air temperature, digital agriculture.

**1. Introdução**

Uma necessidade crescente dentro do contexto da agricultura digital é o fato de tornar cada vez mais atrativa a possibilidade de coleta de dados de maneira contínua, por meio de sensores eletrônicos, principalmente quando essa coleta é feita em condições de campo. Dados como umidade relativa do ar, umidade do solo e temperatura do ar e do solo, se disponibilizados continuamente, podem abrir “portas” para uma agricultura moderna. Nesse sentido, o uso da eletrônica e de sensores de umidade do solo instalados em condições de campo vem ganhando cada vez mais espaço na agricultura, na medida em que vão se tornando cada vez mais acessíveis.

O monitoramento da quantidade de água armazenada no perfil de solo, na profundidade efetiva do sistema radicular, constitui-se em um dos principais fatores para o estudo da resposta de um determinado cultivo em condições de estresse-hídrico, bem como, é importante para estudos de

infiltração de água no solo, irrigação e drenagem de terras agrícolas e de condutividade hidráulica do solo (PALMIERI, 2009). O manejo da irrigação, por exemplo, é realizado com base nos dados de umidade do solo (BUSKE et al., 2014). Portanto, para estudos de dinâmica e de disponibilidade de água no solo, a determinação da umidade do solo é essencial.

Além disso, o uso de tecnologias aplicadas em relação à sustentabilidade do uso da água, tais como os sensores eletrônicos de umidade, podem auxiliar na redução da quantidade de água utilizada por unidade de área, favorecendo a conservação dos corpos hídricos. (FURQUIM; ABDALA, 2019).

Os sensores eletrônicos para aferição dos parâmetros físicos-hídricos e físico-climáticos efetuam a denominada aferição indireta, dessa forma fazendo-se necessária a calibração desses instrumentos. Esses equipamentos podem apresentar diversas maneiras de funcionamento, alguns deles, baseiam-se em medidas de resistência à passagem de corrente elétrica, ou tomam como base a constante dielétrica da água, capacitância elétrica, tensão da água no solo entre outros. Seguidos pelos avanços da informática, a atuação dos sensores permite a automação das atividades no campo devido à coleta contínua dos dados obtidos (LEAO, 2007).

A temperatura do ar (T) e a umidade relativa do ar (UR) são variáveis climáticas que servem para a definição de um tipo climático de uma determinada região. Alterações em valores da UR podem afetar de forma considerável o desempenho de uma atividade agrícola (cultivo ou pecuária), determinando assim, a maneira de como é feito o seu manejo. Tendo como exemplo o manejo da irrigação, a base para determinar a quantidade de água a ser aplicada em um determinado cultivo está comumente associada à capacidade com que a superfície do solo e da vegetação possuem em perder água para a atmosfera (SILVA et al., 2011).

Para calibração dos sensores eletrônicos, em termos de estimativa da umidade do solo, utiliza-se o método padrão ou método gravimétrico. Tal método se baseia na coleta de uma amostra de solo e estimando-se a sua massa úmida. Após essa etapa de coleta e estimativa da massa úmida, leva-se à uma estufa em uma temperatura de 105 °C até adquirir peso constante e determina-se a massa seca do solo. Uma alternativa para estufa é a utilização de forno de microondas (KLUTE, 1986). A secagem em estufa ou microondas removerá a água “retida” entre as partículas do solo, porém, não remove a água estrutural, presa na matriz das argilas. A diferença entre a massa úmida e seca é a massa de água existente na amostra do solo.

O sensor de Umidade do Solo (Watermark) é constituído por dois eletrodos em uma matriz de gesso, operando em uma faixa de frequência de 50 a 10000 Hertz. O sensor de Temperatura, Umidade e Pressão (BME280) mede estes parâmetros físico-climáticos atuando em uma faixa de erro médio situada em torno de 1 °C para temperatura, 3% para umidade do ar e 0,1 kPa para pressão atmosférica do ar. Dessa forma, objetivo da presente pesquisa trata-se da obtenção de valores diretos de umidade de solo, radiação solar e umidade relativa do ar.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Área Experimental**

O experimento foi conduzido em condições de laboratório localizado no Departamento de Engenharia de Biosistemas (LEB/ESALQ/USP) na cidade de Piracicaba, São Paulo, latitude 22° 43' e longitude 47° 38' numa altitude de 547 m e clima Cwa na classificação de Koppen. Foram realizadas as seguintes etapas: 1) Coleta do Material de Solo e preenchimento do vaso; 2) medição da umidade do solo pela Balança (calibração e padrão); 3) Instalação e medidas de umidade do solo pelos sensores eletrônicos pertencentes à Faculdade de Engenharia de Sorocaba (FACENS) e 4) Análise dos resultados do desempenho dos sensores.

### **2.2. Coleta do material de solo e preenchimento dos vasos**

A coleta do material de solo foi feita nas dependências da Faculdade de Engenharia de Sorocaba (FACENS), Sorocaba, SP. O solo é arenoso, sendo sua granulometria composta por 77% de areia, 3% silte e 20% argila. Após a coleta, este passou por um processo de secagem e

destorroamento. Em seguida, peneirado através de uma malha de 2 mm obtendo-se terra fina seca ao ar (TFSA) e analisado quanto as características físicas, a fim de informações sobre as condições iniciais do solo. Juntamente com a balança, o teor de água referencial foi obtido pelo método gravimétrico, as amostras de solo pesadas, secas em estufa a 105°C por 24 horas e pesadas novamente. Encontrou-se a densidade do solo ( $\rho$  solo  $\text{cm}^{-3}$  solo) pesando-o após secagem na estufa e obtendo-se a massa de solo ( $m_s$ ) em um recipiente de volume conhecido ( $V$ ), conforme equação a seguir:

$$d = \frac{m_s}{V} \quad (1)$$

Com o peso do solo seco ( $P_s$ ) e saturado ( $P_u$ ) obteve-se a umidade do solo inicial ( $\text{g H}_2\text{O g}^{-1}$  solo), em gramas de água por gramas de solo.

$$U = \frac{P_u - P_s}{P_s} \quad (2)$$

A partir da obtenção da densidade e umidade do solo obteve-se a umidade com base em volume ( $\theta - \text{cm}^3 \text{H}_2\text{O cm}^{-3}$  solo).

$$\theta = U \cdot d \quad (3)$$

### 2.3. Sensor eletrônico

O sensor utilizado é indicado para mercados com aplicações mais exigentes, como videiras, pomares e cultivos em estufas entre outros. Possui 19 sensores integrados capazes de medir diferentes parâmetros relacionados às condições climáticas, níveis de luz e radiação, morfologia do solo, presença de fertilizantes, prevenção de geadas, crescimento diário de plantas e frutas e outros parâmetros ambientais para melhorar a produção de qualidade e evitar perdas de colheita. Nessa pesquisa, foram utilizados os sensores para coleta de dados da umidade do solo e de temperatura do ar. Os sinais referentes a cada ponto amostral de umidade do solo foram obtidos pelos sensores comparando-se os valores desses sinais com os valores de umidade do solo, obtidos pelo método gravimétrico em uma balança eletrônica. A partir desses dados foram ajustadas equações apropriadas para a calibração do sensor.

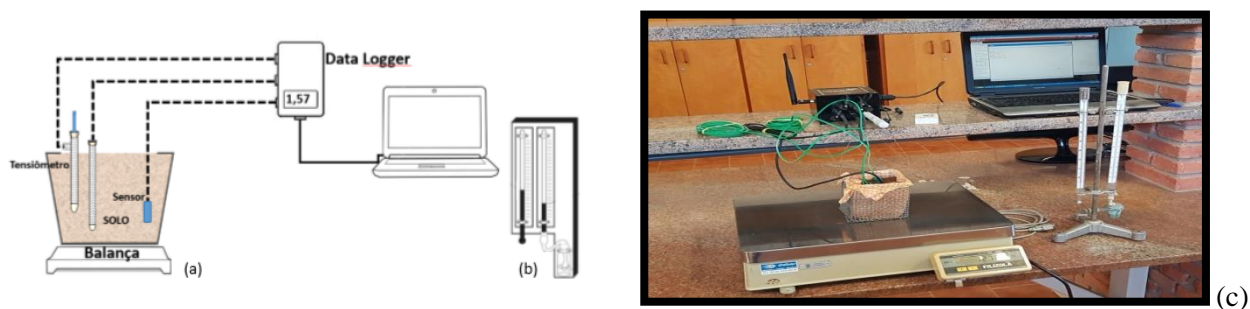


Figura 1. Representação esquemática do experimento (a), psicrômetro (b) e experimento em laboratório (c).

Para a estimativa da umidade relativa calculou-se a velocidade de evaporação da água. Foram utilizados dois termômetros de mercúrio idênticos, expostos ao ar: um denominado de termômetro de bulbo seco ( $T_s$ ) e o outro de termômetro de bulbo úmido ( $T_u$ ) (gaze umedecida). A diferença de leitura entre os dois termômetros ( $T_s - T_u$ ) é chamada de depressão psicrométrica. A partir dela pôde ser encontrada a pressão de vapor atual do ar ( $e_a$ ) pela equação do Psicrômetro, como é apresentado a seguir:

$$e_{su} = 0,6108 \cdot 10^{\frac{7,5 \cdot T_u}{237,3 + T_u}} \quad (4)$$

$$P = 101,325 \cdot \left(1 - \frac{0,00625 \cdot h}{288}\right) \quad (5)$$

$$e_a = e_{su} - \delta \cdot P \cdot (T_s - T_u) \quad (6)$$

$$e_s = 0,6108 \cdot 0,6108 \cdot 10^{\frac{7,5 \cdot T_s}{237,3 + T_s}} \quad (7)$$

$$UR = \frac{ea}{es} \cdot 100 \quad (8)$$

Em que:

- esu = pressão de saturação de vapor em Tu (kPa)
- P = pressão atmosférica (atm)
- h = altitude (m)
- ea = pressão atual ou parcial de vapor (kPa)
- es = pressão de saturação de vapor (kPa)
- UR = umidade Relativa do ar (%)

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Umidade do solo

O registro pela balança eletrônica da quantidade de massa de água evaporada da amostra de solo permitiu a determinação da umidade do solo em função do tempo (Figura 2).

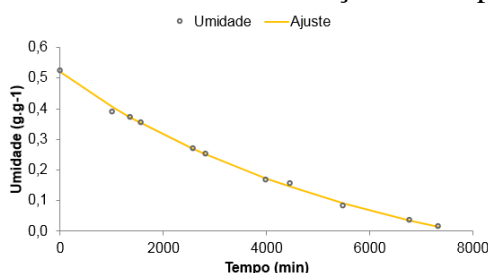


Figura 2. Perda de água da amostra de solo por evaporação

Pôde-se observar que a variação da resistência é tanto menor quanto maior for a umidade do solo. Ou seja, a maior umidade de solo é demonstrada pela maior frequência (Hz), conseqüentemente a menor resistência elétrica encontrada (Figuras 3 e 4).

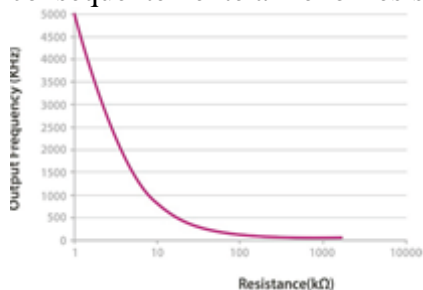


Figura 3. Frequência de resposta

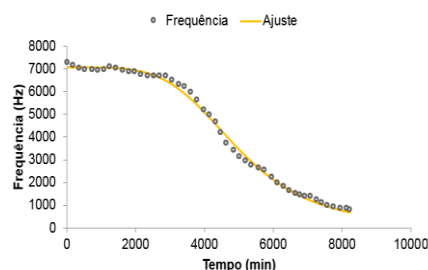


Figura 4. Frequência obtida pelo sensor eletrônico

Dessa forma, os dados foram ajustados e dessa forma obteve-se a curva de calibração do sensor para a umidade do solo ( $\text{g}_{\text{H}_2\text{O}} \text{g}^{-1}_{\text{solo}}$ ), em relação ao material de solo estudado:

$$y = 577326x^4 - 600413x^3 + 156214x^2 + 12305x + 803,71 \quad (R^2 = 0,998)$$

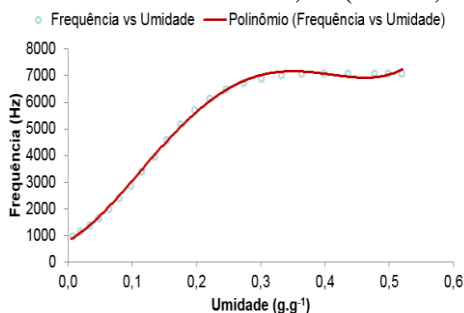


Figura 5. Curva de calibração dos sensores de umidade do solo

#### 3.2. Umidade relativa do ar

A Umidade relativa do ar também foi monitorada a fim de verificar a performance do



sensor. Para isso, essa variável também foi comparada a um mini data logger e para sua calibração foi utilizado o equipamento padrão que é o Psicrômetro. Pela Figura 6, considerando o psicrômetro como o método padrão, foi possível perceber que os sensores apresentaram uma performance satisfatória com valores de umidade relativa apenas 9% inferior do psicrômetro. O sistema de data logger foi aplicado apenas para verificar o registro de dados, caso houvesse algum problema com o psicrômetro.

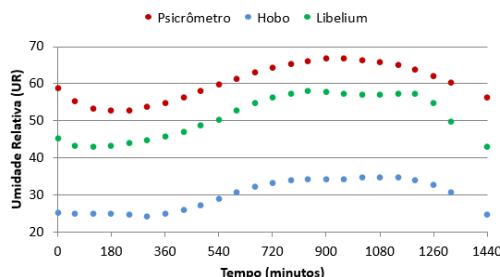


Figura 6. Comparação das leituras de umidade relativa do ar pelos equipamentos: sensor eletrônico, psicrômetro (método padrão) e o mini data logger.

#### 4. Conclusões

Os sensores eletrônicos apresentaram performance satisfatória no monitoramento da umidade do solo, bem como, da temperatura do ar e umidade relativa do ar, evidenciando a sua aplicabilidade na condução de pesquisas e atividades de campo.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem a FACENS pelo financiamento da pesquisa (Projeto FEALQ n.10243-1) e da bolsa de iniciação científica concedida ao primeiro autor. Agradecemos também ao Departamento de Engenharia de Biosistemas (LEB/ESALQ/USP) pelas condições de infraestrutura para a condução dessa pesquisa e a indispensável contribuição do Dr. Ismael Meurer.

#### Referências

- BUSKE, T. C.; ROBAINA, A. D.; PEITER, M. X.; TORRES, R. R.; ROSSO, R. B.; BRAGA, F. de V. A. Determinação da umidade do solo por diferentes fontes de aquecimento. *Irriga*, v. 19, n.2, p.315-324, 2014.
- FURQUIM, M. G. D.; ABDALA, K. O. Sustentabilidade e expansão da agricultura irrigada. *Natural Resources*, v. 9, n. 1, 2019.
- KLUTE, A. *Methods of soil analysis, Part 1 – Physical and Mineralogical Methods*, 2nd ed. Madison, Wisconsin: ASA/SSSA, 1986, (Agronomy Series Number, 9).
- LEAO, Raimundo A. de O. et al. Desenvolvimento de um dispositivo eletrônico para calibração de sensores de umidade do solo. *Eng. Agríc.*, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 294-303, Apr. 2007.
- PALMIERI, A.M. Desenvolvimento de sistema automatizado de baixo custo para coleta e armazenamento de dados de variáveis climáticas: aplicações no ambiente agrícola. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de concentração Física do Ambiente Agrícola) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- ROSSATO, L. Estimativa da capacidade de armazenamento de água no solo do Brasil. 2001. 145 f. Dissertação (Mestrado em Meteorologia) – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, 2002.
- SILVA, A. C. DA; LIMA, L. A.; EVANGELISTA, A. W. P.; MARTINS, C. P. Evapotranspiração e coeficiente de cultura do cafeeiro irrigado por pivô central. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v.15, p.1215-1221, 2011.
- SILVA, I. M.; PANDORFI, H.; VASCONCELOS, A.J. S.; LAURENTI, R.; GUISELINI, C. Low cost driver device for microclimate maintenance in the pre-milking of dairy cattle. *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, vol.33, n.1, pp. 01-10, 2013.

## COMPARAÇÃO DE TEMPERATURAS DE SUPERFÍCIE DE SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA, PECUÁRIA E FLORESTA (ILPF), PASTAGEM E MATA NATIVA POR MEIO DE IMAGENS

Caique Barbosa S. Lima<sup>1,\*</sup>, Nicolle Laurenti<sup>2</sup>; Maria Luiza Franceschi Nicodemo<sup>3</sup>; José Ricardo Macedo Pezzopane<sup>3</sup>; Alexandre Rossetto Garcia<sup>3</sup>; Alberto C. de Campos Bernardi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Gestão e Análise Ambiental - UFSCAR, São Carlos, SP*

<sup>2</sup> *Engenharia Agrônômica – UNICEP, São Carlos, SP*

<sup>3</sup> *Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: cbslima@hotmail.com*

**Resumo:** O sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) é uma forma alternativa de organização de produção que promove a intensificação sustentável do uso da terra. O objetivo deste trabalho foi comparar a variação da temperatura de superfície de sistema ILPF com vegetação nativa, pastagem e mata nativa partir de imagens de monitoramento aéreo. Foram geradas imagens de Termografia de Infravermelho (IRT) comparando os três sistemas estudados. Os resultados indicaram que o sistema de integração Lavoura, Pecuária e Floresta resultaram em temperaturas mais amenas do que as registradas no sistema de pastagem extensiva tradicional, o que pode conferir benefícios como resultado do microclima abaixo de suas árvores, que podem garantir benefícios aos animais criados nesta área.

**Palavras-chave:** geoprocessamento, agricultura de precisão, mapeamento, termografia de superfície, sistemas integrados

### **COMPARISON OF SURFACE TEMPERATURES OF CROPS, LIVESTOCK AND FOREST INTEGRATED SYSTEM, PASTURE AND NATIVE FOREST BY IMAGES**

**Abstract:** A crop-livestock-forest integration system is an alternative form of organization of production that promotes the sustainable intensification of land use. The objective of this work was to compare the surface temperature variation of crop, livestock and forest integration system (ILPF), pasture and native forest from aerial monitoring images. Infrared thermography (IRT) images were generated comparing the three studied systems. The results indicated that the ILPF resulted in lower temperatures than those recorded in the traditional extensive pasture system, which may confer benefits as a result of the microclimate below their trees, which may guarantee benefits to the animals raised in this area.

**Keywords:** geoprocessing, precision agriculture, mapping, surface thermography, integrated systems

#### **1. Introdução**

O sistema de integração Lavoura, Pecuária e Floresta (ILPF) promove a intensificação do uso da terra e a busca de efeitos sinérgicos entre os componentes do agroecossistema de maneira sustentável, com o objetivo de atingir patamares elevados de qualidade de produto e qualidade ambiental (BALBINO *et al.*, 2011). Uma alternativa aos sistemas arborizados com eucalipto são os sistemas com espécies florestais nativas (NICODEMO *et al.*, 2016). É importante estudar as características e efeitos destes sistemas integrados, e as ferramentas de agricultura de precisão (AP) são aliadas para realização de análises espaço temporais. Estas análises são realizadas a partir da coleta de dados de máquinas ou sensores, ou a partir de imagens de sensoriamento remoto, oriundos de veículos aéreos tripulados ou não tripulados, ou imagens de satélite, por exemplo.

Segundo Filippini-Alba (2014), o sensoriamento remoto trata de medições sem contato físico

entre o alvo e o sensor, permitindo o estudo da interação da radiação eletromagnética com os objetos terrestres, que podem gerar diversas análises. Os índices de vegetação e ambientais obtidos por sensoriamento remoto têm sido utilizados para estimar a biomassa vegetal e os efeitos dos estresses bióticos e abióticos, pois são indicativos das mudanças temporais e espaciais dos ecossistemas. Entre as técnicas destacam-se a termografia de superfície e os índices de reflectância. A termografia de superfície detecta o fluxo radiante de objeto emitido em comprimentos de onda entre 3-14  $\mu\text{m}$ , utilizando detectores de radiação infravermelha acoplados a plataformas orbitais ou aeronaves.

O objetivo deste trabalho foi comparar a variação da temperatura de superfície de sistema de integração lavoura, pecuária e floresta (ILPF), pastagem e mata nativa a partir de imagens de monitoramento aéreo de diferentes datas registradas em uma mesma faixa de horário, buscando uma incidência solar parecia em to

## 2. Material e Métodos

O estudo monitorou 3 áreas localizadas na área experimental da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP (Figura 1):

- i. Sistema silvipastoril com espécies florestais nativas (**ILPF Nativas**): sistema implantado em 2007. A pastagem é de capim braquiária (*Urochloa decumbens*), e os renques de árvores são compostos por três linhas, com espaçamento entre árvores de 2,5 m x 2,5 m, e 15m X 15m entrelinhas (600 árvores/ha). A linha central, é composta pelas espécies florestais: angico-branco (*Anadenanthera colubrina*); canafístula (*Peltophorum dubium*); ipê-felpudo (*Zeyheria tuberculosa*); jequitibá-branco (*Cariniana estrellensis*) e pau-jacaré (*Piptadenia gonoacantha*); e as duas linhas laterais: mutambo (*Guazuma ulmifolia*) e capixingui (*Croton floribundus*) (NICODEMO et al., 2016);
- ii. **Pastagem** extensiva de capim braquiária (*Urochloa decumbens*). A pastagem encontra-se com baixo vigor, baixa qualidade e baixa população de plantas;
- iii. Fragmento de floresta estacional semidecidual (**Mata nativa**) com aproximadamente 112 ha com 146 espécies lenhosas, pertencentes a 44 famílias e 96 gêneros (HORA & SOARES, 2002).

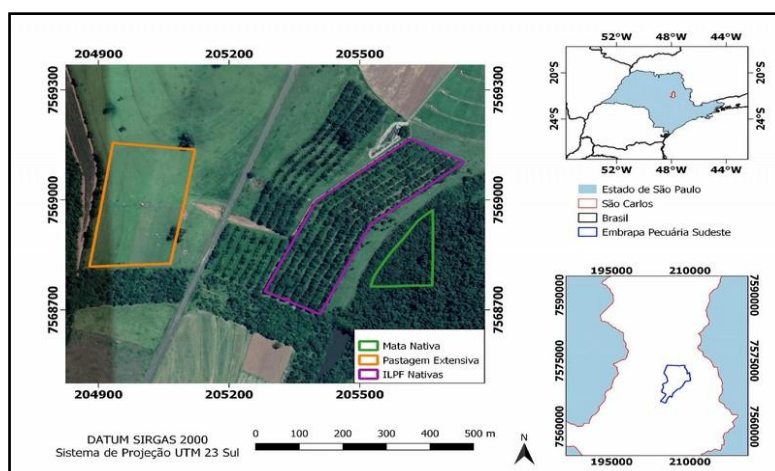


Figura 1. Localização das áreas de estudo de pastagem, ILPF nativas e mata nativa.

Foram utilizados dados georreferenciados de termografia de superfície com resolução de aproximadamente 1 metro, coletados pela empresa Airscout®, gerados com termógrafo (ICI 8640P, Infrared Cameras Inc, EUA) com detector de 640 x 512 pixel e lente de longo alcance (45 x 39 x 38 mm), sensibilidade térmica de  $<0.02^{\circ}\text{C}$ , e amplitude de temperatura de  $-20$  a  $120^{\circ}\text{C}$ . O termógrafo foi embarcado em veículo aéreo e os sobrevoos foram realizados à altura predeterminada de 2.000 pés no horário das 11h00 às 14h30. As datas das coletas estão na Tabela 1.

Estes dados foram organizados em sistema de informação geográfica (SIG) e interpolados utilizando o software ArcGIS 10.5, por meio da técnica do vizinho ponderado (IDW) para obter um

arranjo espacial contínuo das informações no local de estudo (AKKALA *et al.*, 2010).

A partir dos mapas em cada data amostrada, criou-se uma malha de pontos padronizada para amostragem para cada área, de acordo com o seu tamanho, o qual foi utilizado como referencial de amostragem para extrair informações da mesma localidade em todas as imagens e, então calcular-se a média das temperaturas por estação.

Tabela 1. Datas de coleta das imagens de termografia de superfície nas estações do ano de 2018

Estação do ano			
Verão	Outono	Inverno	Primavera
27/01/2018	06/04/2018	06/09/2018	12/10/2018
05/02/2018	22/04/2018		09/12/2018
17/02/2018	07/05/2018		
12/03/2018			
18/03/2018			

Os valores obtidos foram organizados de acordo com as respectivas estações do ano, e estabeleceu-se 5 classes de temperaturas para comparação: 17 a 21.9°C; 22 a 26.9°C; 27 a 31.9°C; 32 a 36.9°C; e < 37°C. Calculou-se as frequências de ocorrência dos valores em cada classe utilizando o software LibreOffice Calc.

### 3. Resultados e Discussão

A Figura 2 mostra os mapas da termografia de superfície das áreas de pastagem, ILPF nativas e mata nativa nas quatro estações do ano. As imagens mostram o efeito positivo da presença das árvores, pois na área de pastagem, as temperaturas tendem a ser mais elevadas, com redução das mesmas no sistema ILPF nativas, em comparação com a mata nativa. A Tabela 2 confirma esta tendência, uma vez que ao se comparar as classes de temperaturas do sistema ILPF Nativas com as da pastagem extensiva nas mesmas estações, há uma diferença, indicando um predomínio das temperaturas mais amenas no sistema ILPF. Quando se observa também as temperaturas da área de mata nativa, nota-se que durante o verão e outono as temperaturas registradas no ILPF estão próximas a distribuição das temperaturas observadas na área de mata nativa.

As temperaturas mais amenas no microclima abaixo das sombras das árvores podem resultar em ganhos referentes ao bem-estar animal, que não está constantemente exposto ao sol como em um sistema pecuário extensivo tradicional, como já havia sido demonstrado por Pezzopane *et al.* (2019).

Tabela 2. Percentual de temperatura nos sistemas estudados.

Sistemas	Faixas de temperatura °C	Estações do ano			
		Verão	Outono	Inverno	Primavera
ILPF Nativas	17 - 21,9	44,1	35,7	13	-
	22 - 26,9	36	51,7	55,2	-
	27 - 31,9	17,8	12	31,8	42,8
	32 - 36,9	2,1	0,6	-	54,4
	>37	-	-	-	2,8
Pasto	17 - 21,9	42,8	32,2	4	-
	22 - 26,9	37,5	17,6	49	-
	27 - 31,9	9,2	49	46	1,5
	32 - 36,9	10,5	1,2	1	61,3
	>37	-	-	-	37,2
Mata Nativa	17 - 21,9	72,3	35,8	100	-
	22 - 26,9	13,3	52,5	-	50
	27 - 31,9	14,4	11,7	-	50
	32 - 36,9	-	-	-	-
	>37	-	-	-	-

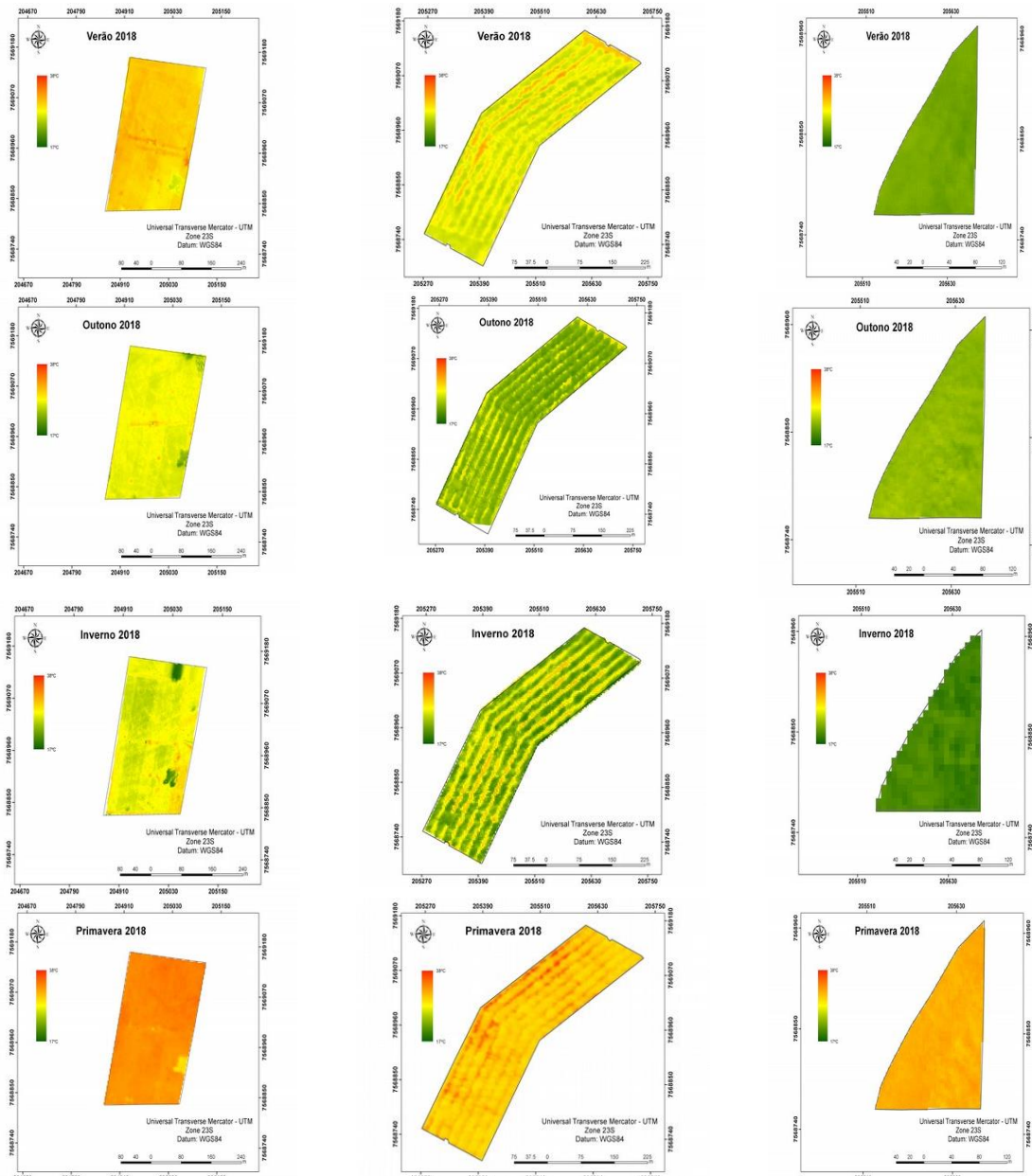


Figura 2. Mapas da termografia de superfície das áreas de pasto, ILPF nativas e mata nativa nas estações do ano.

#### 4. Conclusões

Os resultados indicaram que o sistema de integração Lavoura, Pecuária e Floresta resultaram em temperaturas mais amenas do que as registradas no sistema de pastagem extensiva tradicional, o que pode conferir benefícios como resultado do microclima abaixo de suas árvores, que podem garantir benefícios aos animais criados nesta área.

#### Agradecimentos

À empresa AirScout® pelo fornecimento das imagens aéreas e à Associação da Rede ILPF pelo suporte financeiro para condução de trabalho.

#### Referências

- AKKALA, A.; DEVABHAKTUNI, V.; KUMAR, A. Interpolation techniques and associated software for environmental data. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, Hoboken, v.29, n.2, p. 134-141, 2010.
- BALBINO, L. C.; BARCELLOS, A. de O.; STONE, L. F. (Ed.). **Marco referencial: integração**

lavoura-pecuária-floresta. Brasília, DF: Embrapa, 2011. 130 p.

- FILIPPINI ALBA, J. M. Modelagem SIG em agricultura de precisão: conceitos, revisão e aplicações. In: BERNARDI, A. C. C.; NAIME, J. M.; RESENDE, A. V.; BASSOI, L. H.; INAMASU, R. Y. (Ed.). **Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. p. 84-95.
- HORA, R.C.; SOARES, J.J. Estrutura fitossociológica da comunidade de lianas em uma floresta estacional semidecidual na Fazenda Canchim, São Carlos, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 3, p. 323-329, 2002.
- NICODEMO, M. L. F.; MULLER, M. D.; PORFIRIO-DA-SILVA, V.; CARPANEZZI, A. A.; PEZZOPANE, J. R. M.; BARIONI JUNIOR, W. Growth of native trees in two agroforestry systems. **Revista Árvore**, v. 40, n. 4, p. 639-648, 2016.
- PEZZOPANE, J. R. M.; NICODEMO, M. L. F.; BOSI, C.; GARCIA, A. R.; LULU, J. Animal thermal comfort indexes in silvopastoral systems with different tree arrangements. **Journal of Thermal Biology**, v. 79, p. 103-111, 2019.

**CORRELAÇÃO ENTRE ÁREA FOLIAR E ÍNDICE RELATIVO DE CLOROFILA DO PEPINEIRO FERTIRRIGADO COM EFLUENTE TRATADO DE LATICÍNIO**A. C. M. Lima<sup>1,\*</sup>, L. P. Magalhães<sup>1</sup>, L. R. Trevisan<sup>1</sup>, L. Brichi<sup>1</sup>, T. M. Gomes<sup>2</sup>, F. Rossi<sup>2</sup><sup>1</sup> Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Av. Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, São Paulo<sup>2</sup> Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Av. Duque de Caxias Norte, 225, 13635-900, Pirassununga, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: ana.murad.lima@usp.com

**Resumo:** O trabalho buscou correlacionar o índice relativo de clorofila com as doses de efluente tratado de laticínio utilizadas na irrigação de pepineiro e com a área foliar. Os índices de correlação obtidos pela análise de Pearson mostraram forte correlação entre as doses de efluente e clorofila total, doses de efluente e área foliar, e entre área foliar e clorofila, sendo maior para essa última. Assim, a medição de área foliar se apresentou como um indicativo do índice relativo de clorofila nas folhas do pepineiro e ambos indicam a resposta da cultura à irrigação com efluente.

**Palavras-chave:** Índice vegetativo, reuso agrícola, integrador de área foliar, *Cucumis sativus* L., programação.

**CORRELATION BETWEEN LEAF AREA AND CHLOROPHYLL RELATIVE INDEX IN CUCUMBER FERTIRRIGATED WITH TREATED DAIRY EFFLUENT**

**Abstract:** The work aimed to correlate the relative chlorophyll index with the treated dairy effluent doses used in irrigation of cucumber and leaf area. The correlation indices obtained by Pearson analysis showed a strong correlation between effluent doses and total chlorophyll, effluent doses and leaf area, and between leaf area and chlorophyll, being higher for this one. Thus, leaf area was indicative of the relative chlorophyll index in cucumber leaves and both of them indicate the culture response to the irrigation with effluent.

**Keywords:** Vegetative index, agricultural reuse, leaf area integrator, *Cucumis sativus* L., programming.

**1. Introdução**

O aproveitamento de água residuária na irrigação é uma alternativa para diminuir o consumo de água potável na irrigação, que, em 2018, foi o setor com maior consumo de água no Brasil, responsável por 68% do total (ANA, 2019). Essa prática ainda possui a vantagem de minimizar o despejo de resíduos líquidos nos corpos d'água, favorecendo a gestão dos recursos hídricos (HESPANHOL, 2002), e de possuir nutrientes que podem favorecer as plantas e diminuir o uso de adubos minerais, beneficiando economicamente o produtor. Entretanto, essa prática pode gerar algumas desvantagens a depender das características do efluente utilizado. A indústria de laticínio é uma grande geradora de efluente. Saraiva et al. (2009) estimam que um laticínio de pequeno porte gera cerca de 3,5 litros de efluente por litro de leite processado, o que resultaria em um volume de 117,6 bilhões de litros de efluente, considerando a produção de 33,6 bilhões de litros de leite produzidos em 2016, segundo dados do último anuário leiteiro (MARTINS, 2018).

O pepineiro é uma planta classificada como moderadamente sensível à salinidade, consegue se desenvolver com a salinidade da água de irrigação de até 1,7 dS m<sup>-1</sup>, limite a partir do qual começa a haver perdas de potencial produtivo (MASS; HOFFMAN, 2017). Para avaliar a resposta do pepineiro às condições de estresse, como pode vir a acontecer durante a irrigação com efluente, ferramentas não destrutivas e de resposta rápida podem se tornar úteis. Isso porque, tornam possível

avaliar alguns parâmetros de resposta da planta de forma a adequar o manejo, caso necessário. O clorofilômetro é um equipamento que atende a essa função ao estimar a quantidade de clorofila na planta através da medição do índice relativo de clorofila, calculado para as clorofilas *a*, *b* e total. Faz-se importante, portanto, verificar o índice relativo de clorofila e a área foliar como avaliações capazes de indicar a resposta da planta à irrigação com doses de efluente. Paralelamente, buscou-se verificar se essas avaliações se correlacionam, tornando possível simplificar a forma de verificação e acompanhamento da resposta da cultura à irrigação com efluente. Assim este trabalho teve por objetivo avaliar a correlação entre a área foliar do pepineiro e o teor de clorofila nas folhas, e destes com as doses de efluente utilizadas na irrigação da cultura.

## 2. Materiais e Métodos

Foram testadas 5 dosagens de efluente tratado de laticínio na irrigação do pepineiro. O efluente foi diluído em água de abastecimento, nas porcentagens de 25, 50, 75 e 100% efluente, além de um tratamento testemunha, irrigado somente com água de abastecimento (0% efluente), com quatro repetições em blocos casualizados. O pepineiro do tipo japonês foi transplantado em uma densidade de 4 plantas m<sup>2</sup> e cultivados em solo argiloso, corrigido e adubado para fósforo e potássio conforme recomendação (TRANI; PASSOS; ARAÚJO, 2015). A adubação nitrogenada recomendada foi realizada através de composto orgânico no berço de transplântio para todos os tratamentos. A adubação nitrogenada de cobertura foi realizada apenas para o tratamento testemunha. O manejo de irrigação foi feito através da leitura dos tensiômetros instalados em cada parcela e calculando-se necessidade de irrigação com a média de tensão para cada tratamento.

Aos 51 dias após o transplântio (DAT) foi medido, na quinta folha a partir do ápice, os índices relativos de clorofila com o auxílio de um clorofilômetro portátil, modelo ClorofiLOG CFL1030 da FALKER. Aos 54 DAT a quinta folha expandida de cada planta foi coletada e suas áreas foram calculadas através do integrador de área foliar LI-3100 (LI-COR<sup>®</sup>). As áreas obtidas para cada tratamento foram correlacionadas com os índices relativos de clorofila e com as dosagens de efluente utilizadas na irrigação através do coeficiente de determinação ( $R^2$  e  $R^2$  Ajustado) e da correlação de Pearson (*r*). Para fim de classificação da correlação de Pearson, adotou-se os seguintes critérios: correlação perfeita ( $r=1$ ), forte ( $r>0,75$ ), moderada ( $r>0,5$ ), fraca ( $r<0,5$ ) e inexistente ( $r=0$ ) (NOGUEIRA et al., 2010).

## 3. Resultados e Discussão

Os maiores coeficientes de determinação ( $R^2$  e  $R^2$  Ajustado) foram encontrados na relação entre área foliar e clorofila (Tabela 1). Esse alto valor de *r*, entre a clorofila total e a área foliar é explicado pela relação entre a maior área para realização da fotossíntese nas folhas maiores, e, consequentemente, maior produção de clorofila pela planta. Avaliar essas características pode indicar quais plantas melhor se desenvolveram, sendo estas as que apresentam maiores valores de área foliar, corroborando com os resultados encontrados por Dantas et al. (2012) para cacauzeiro utilizando o medidor portátil de clorofila SPAD.

Apesar dos coeficientes de correlação da dose de efluente, tanto com clorofila total quanto com área foliar, terem sido baixas, as correlações de Pearson com esta variável estão em níveis considerados forte ou moderado, no caso da correlação dose e clorofila *b* (Figura 1).

Tabela 1. Coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e coeficiente de determinação ajustado ( $R^2$  ajustado) para as relações entre a dose de efluente, área foliar e índice relativo de clorofila total (*chlT*).

Eixo x	Eixo y	$R^2$	$R^2$ Ajustado
Dose de efluente	<i>chlT</i>	0,6186	0,4914
Dose de efluente	Área foliar	0,6151	0,4868
Área foliar	<i>chlT</i>	0,8514	0,8019

Os altos níveis de correlação provavelmente se devem às características do próprio efluente,



principalmente alta concentração salina, em torno de  $2,55 \text{ dS m}^{-1}$  e alta concentração de nitrogênio, cerca de  $132 \text{ mg L}^{-1}$  (BRICHI, 2018). O fornecimento de nitrogênio já foi correlacionado com o aumento do índice de relativo de clorofila em pepineiro (PÔRTO et al., 2014), e o mesmo nutriente é requerido em grandes quantidades para o desenvolvimento vegetativo, o que pode explicar a alta correlação entre o índice de clorofila e a área foliar.

Por outro lado, a alta concentração salina do efluente pode afetar o desenvolvimento das plantas ao alterar o potencial osmótico do solo (VARALLO et al., 2010; AMORIM et al., 2002). Assim, as menores correlações entre dose e clorofila e entre dose e área foliar se devem, provavelmente, a esse efeito negativo da irrigação com o efluente.

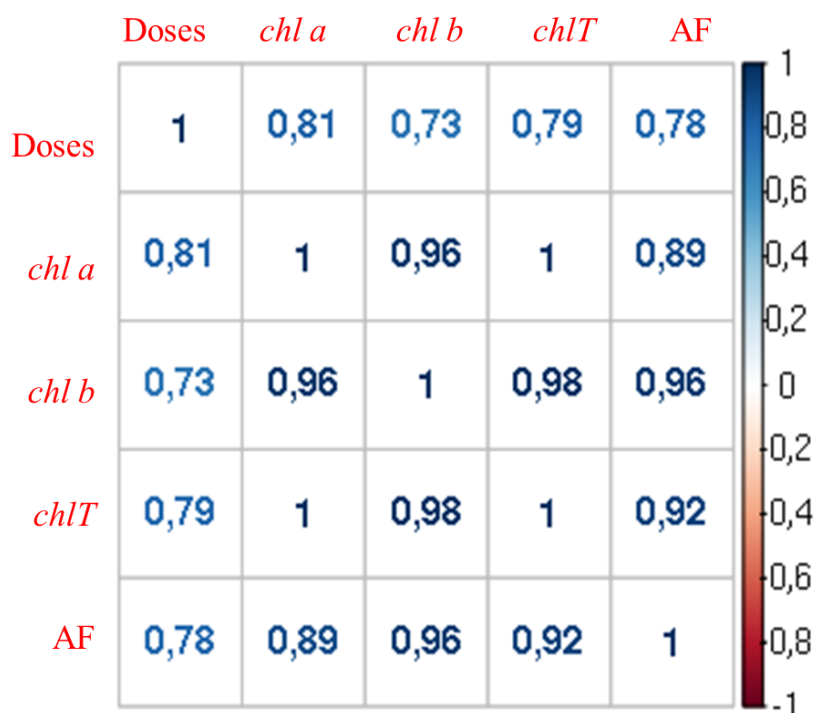


Figura 1. Coeficientes de correlação de Pearson. Doses: do efluente tratado de laticínio (0% - testemunha; 25%, 50%, 75% e 100%); *chl a*: índice relativo de clorofila *a*, *chl b*: índice relativo de clorofila *b*; *chlT*: índice relativo de clorofila Total; AF: área foliar.

#### 4. Conclusões

As correlações de Pearson entre área foliar e índice relativo de clorofila total, assim como entre área foliar e dose do efluente e dose e clorofila total foram classificadas como fortes. A correlação entre a clorofila *b* e a dose foi classificada como moderada. Dessa forma, o valor calculado da área foliar serviu como indicativo do teor de clorofila em pepineiro e ambos foram afetados pelas doses de efluente tratado de laticínio.

#### Agradecimentos

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo financiamento da bolsa de mestrado do primeiro autor e à toda equipe do GEBio – Sistemas e Engenharia.

#### Referências

- AMORIM, J. R. A. et al. Efeito da salinidade e modo de aplicação da água de irrigação no crescimento e produção de alho. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 37, p. 167-176, 2002.
- ANA. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil 2018: informe anual: versão atualizada, Brasília: ANA, 2019, 72 p.

- BRICHI, L. Minitomateiro consorciado com adubos verdes fertirrigados com efluente tratado de laticínio. 2018. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Sistemas Agrícolas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.
- DANTAS, P. A. S. et al. Estimativa não destrutiva do teor foliar de nitrogênio em cacaueteiro utilizando clorofilômetro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 34, n. 3, p. 669-677, 2012.
- MAAS E. V.; HOFFMAN G. J. Crop salt tolerance – Current assessment. *Journal of the irrigation and drainage division*, v. 103, n. 2, p. 115-134, 1977.
- MARTINS, P. C. (Org.). ANUÁRIO LEITE 2018: Indicadores, tendências e oportunidades para quem vive no setor leiteiro. [s. L.]: Embrapa Gado de Leite, 2018. 116 p.
- NOGUEIRA, I.D.B. (2010) Correlation between quality of life and functional capacity in cardiac failure. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, v. 95, n. 2, p. 238-243.
- PÔRTO, M. L. A. et al. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio na cultura do pepino japonês em ambiente protegido. *Horticultura Brasileira*, v. 32, n. 3, 2014.
- SARAIVA, C. B. et al. Consumo de água e geração de efluentes em uma indústria de laticínios. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 64, n. 367, p. 10-18, 2009.
- TRANI, P. E.; PASSOS, F. A.; ARAÚJO, H. S. Calagem e adubação do pepino. Campinas-SP: Instituto Agrônomo de Campinas, 2015. Disponível em:  
<[http://www.iac.sp.gov.br/imagem\\_informacoestecnologicas/98.pdf](http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/98.pdf)>. Acesso em: 09 jan. 2018.
- VARALLO, A. C. T. et al. Alterações nos atributos de um Latossolo Vermelho-amarelo irrigado com água de reúso. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 14, n. 4, p. 372-377, 2010.

## ÍNDICE DE VEGETAÇÃO AJUSTADO AO SOLO-SAVI ADAPTADO: PROPOSTA PARA CARACTERIZAR COBERTURA VEGETAL DO SOLO

L. P. Magalhães<sup>1,\*</sup>, L. R. Trevisan<sup>1</sup>, T. N. Gomes<sup>2</sup>, F. Rossi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ESALQ/USP, Av. Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, SP

<sup>2</sup> FZEA/USP, Duque de Caxias Norte, 255, 13635-900, Pirassununga, SP

\* Autor correspondente, e-mail: leonardo.magalhaes@usp.br

**Resumo:** Desde 1973 com as pesquisas realizadas por Rouse et al. e a publicação do índice NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*), diversos índices vegetativos foram sendo propostos com diferentes configurações. Grande parte deles se utiliza, em sua composição, da banda do infravermelho. Tal fato demanda a utilização de câmeras modificadas para seu cálculo, o que eleva os custos e diminui o acesso à utilização desses índices. Outros autores, então, propuseram a utilização de índices que utilizem somente bandas no visível, RGB, com alguns autores propondo a substituição do infravermelho pelo verde, exemplo do índice MPRI (*Modified Photochemical Reflectance Index*). Porém, alguns índices também sofrem influência, no cálculo, dos efeitos de reflectância do solo no local avaliado. Um índice que se propõe a minimizar esse efeito é o SAVI (*Vegetation Index Soil-Adjusted*). Portanto, neste trabalho buscou-se adaptar esse índice utilizando somente bandas na faixa do visível e avaliar se o mesmo teria vantagens sobre outros índices calculados nessa faixa. O SAVI adaptado demonstrou maior sensibilidade à variação do verde em relação ao MPRI, indicando que sua utilização pode caracterizar melhor a cobertura vegetal.

**Palavras-chave:** MPRI, cobertura vegetal, visão computacional

### **SOIL ADJUSTED VEGETATION INDEX - ADAPTED SAVI: PROPOSED TO CHARACTERIZE SOIL VEGETABLE COVERAGE**

**Abstract:** Since 1973 with research conducted by Rouse et al. and the publication of the NDVI index (*Normalized Difference Vegetation Index*), several vegetative indices were proposed with different configurations. Most of them use, in their composition, the infrared band. This fact requires the use of modified cameras for its calculation, which increases costs and reduces access to the use of these indices. Other authors then proposed the use of indices that use only visible bands, RGB, with some authors proposing the replacement of infrared with green, example of the MPRI index (*Modified Photochemical Reflectance Index*). However, some indices are also influenced in the calculation of the effects of soil reflectance at the evaluated site. An index that aims to minimize this effect is SAVI (*Vegetation Index Soil-Adjusted*). Therefore, in this work tried to adapt this index using only bands in the visible range and to evaluate if it would have advantages over other calculated indexes in this range. The adapted SAVI showed greater sensitivity to green variation in relation to MPRI, indicating that its use can better characterize the vegetation cover compared to this other index.

**Keywords:** MPRI, vegetal cover, computer vision

### **1. Introdução**

O primeiro índice a ser descrito na literatura, por Rouse et al. (1973), o NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*) também tornou-se com o tempo o índice mais conhecido e utilizado em aplicações na agricultura. Sua composição leva em conta a reflectância da planta nos comprimentos de onda do vermelho e do infravermelho e relaciona-se com o teor de biomassa, área foliar, estresse entre outros fatores. Ao longo do tempo outros índices foram sendo propostos com a

utilização de diferentes bandas de cores. Um exemplo, foi o GNDVI proposto por Gitelson et al. (1996) que se trata de um índice adaptado do NDVI, e que utiliza a banda do verde em substituição ao vermelho. Essa substituição, segundo os autores, deu-se devido ao fato de que durante a evolução humana a cor verde esteve mais associada à avaliação da sanidade das plantas do que o vermelho. Já Yang et al. (2008) propuseram um novo índice chamado MPRI (*Modified Photochemical Reflectance Index*). Assim como os demais, este índice também se baseia na diferença normalizada entre duas bandas, mas nesse caso propõe a substituição do infravermelho pelo verde na equação do NDVI. Os autores fizeram essa proposta pois observaram que ao longo do visível (R G B) a relação entre as bandas da região do verde e do vermelho tem o mesmo comportamento da relação entre o infravermelho e o vermelho. Índices no RGB podem ser relacionados com diferentes aspectos de desenvolvimento das plantas, como fenotipagem (KEFAUVER et al., 2015), detecção de doenças (ZHOU et al., 2015) ou estresse hídrico (CASADESÚS et al., 2007).

Em 1988, Huete propôs o Índice de Vegetação Ajustado ao Solo (SAVI), assim como os outros citados este também é uma melhoria do NDVI. Neste caso, foi proposta a aplicação de uma constante L, para fim de minimizar os efeitos do solo no cálculo do índice vegetativo. Esta constante varia de 0,25 a 1, de acordo com a densidade da vegetação, sendo que para áreas com pouca cobertura vegetal adota-se o valor de 1 para L, áreas com uma cobertura intermediária L recebe o valor de 0,5 e áreas muito densas o valor de 0,25. Quando L é nulo, o SAVI torna-se igual ao NDVI. Como Yang et al. (2008) avaliaram que o comportamento da banda do verde menos a do vermelho resulta em algo semelhante ao infravermelho menos o vermelho, neste trabalho buscou-se testar o SAVI adaptado, utilizando apenas bandas do RGB, substituindo-se o infravermelho de sua composição pelo verde e assim comparar seus resultados com os apresentados pelo MPRI.

## 2. Materiais e Métodos

A área estudada localiza-se na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo (USP) em Pirassununga, sendo uma área de pastagem de coats-cross com um total de 4096 m<sup>2</sup>, com infestação da área de braquiária. Para captação da imagem foi utilizado um VANT (Veículo Aéreo Não-Tripulado) Phantom 4 Pro, com uma câmera de 12 MegaPixel. O voo foi realizado a 100 metros de altura, o que permitiu uma visualização geral da área com apenas uma imagem. A área foi dividida em 8 parcelas, apenas para o cálculo dos índices vegetativos de acordo com a Figura 1.



Figura 1. Área utilizada no estudo, com oito parcelas, sendo numerada da esquerda para a direita de um a oito.

A imagem obtida foi utilizada para cálculo dos índices utilizando um algoritmo desenvolvido em linguagem python descrito a seguir:

```
import cv2
import numpy as np
im = cv2.imread("area3.jpg") #abre a imagem desejada
r = cv2.selectROI(im) #selecionada a região a ser calculada os índices
imCrop = im[int(r[1]):int(r[1]+r[3]), int(r[0]):int(r[0]+r[2])]
canalAzul, canalVerde, canalVermelho = cv2.split(imCrop) #obtem as bandas de cor no RGB
avg_color_per_row1 = np.average(canalVerde, axis=0) #calcula a media por linha de cada banda na area selecionada
avg_color_per_row2 = np.average(canalVermelho, axis=0)
avg_color_per_row3 = np.average(canalAzul, axis=0)
avg_color1 = np.average(avg_color_per_row1, axis=0) #calcula a media geral de cada banda na area selecionada
avg_color2 = np.average(avg_color_per_row2, axis=0)
avg_color3 = np.average(avg_color_per_row3, axis=0)
MPRI = (avg_color1 - avg_color2)/(avg_color1 + avg_color2) #calcula o indice MPRI
SAVI = (1.5)*(avg_color1 - avg_color2)/(avg_color1 + avg_color2 + 0.5) #calcula o SAVI adaptado
Gn = (avg_color1)/(avg_color1 + avg_color2 + avg_color3) #calcula o verde normalizado
Rn = (avg_color2)/(avg_color1 + avg_color2 + avg_color3) #calcula o vermelho normalizado
Bn = (avg_color3)/(avg_color1 + avg_color2 + avg_color3) #calcula o azul normalizado
print('MPRI =', MPRI)
print('SAVI =', SAVI)
print('Gn =', Gn)
print('Rn =', Rn)
print('Bn =', Bn)
cv2.waitKey(0)
cv2.destroyAllWindows()
```

Os índices utilizados foram o MPRI, o SAVI (substituindo o infravermelho pelo verde) e as bandas RGB normalizadas. Utilizando o R Studio foram feitas as diferentes análises estatísticas dos dados.

$$\text{MPRI} = (\text{Verde} - \text{Vermelho}) / (\text{Verde} + \text{Vermelho}) \quad (1)$$

$$\text{SAVI adaptado} = ((1 + L) * (\text{Verde} - \text{Vermelho})) / (L + \text{Verde} + \text{Vermelho}) \quad (2)$$

Sendo que nesse caso, foi adotado  $L = 0,5$ .

$$\text{Rn} = \text{Vermelho} / (\text{Verde} + \text{Vermelho} + \text{Azul}) \quad (3)$$

$$\text{Gn} = \text{Verde} / (\text{Verde} + \text{Vermelho} + \text{Azul}) \quad (4)$$

$$\text{Bn} = \text{Azul} / (\text{Verde} + \text{Vermelho} + \text{Azul}) \quad (5)$$

### 3. Resultados e Discussão

Foi feito um teste de normalidade dos dados (Shapiro-Wilk) obtendo significância ( $p = 0,5323$ ). Após a análise de normalidade, os valores de máximo, mínimo e a média de cada um foram calculados e são demonstrados na Tabela 1. Avaliando a diferença entre os valores mínimos e máximos, observou-se uma sensibilidade maior por parte do SAVI adaptado com um valor de 0,1201 enquanto a diferença do MPRI foi calculada em 0,0803. Segundo Epiphanyo e Huete (1995) o SAVI é mais sensível ao infravermelho do que ao vermelho, ocorrendo o contrário no NDVI. Ao substituir o infravermelho pelo verde, nota-se que se mantém essa correlação, agora com o SAVI sendo mais sensível ao verde do que o MPRI.

Tabela 1. Valores encontrados para os diferentes índices vegetativos nas parcelas avaliadas

	MPRI	SAVI	Rn	Gn	Bn
Mínimo	0,0349	0,0523	0,3199	0,3711	0,2703
Máximo	0,0854	0,1280	0,3312	0,3933	0,2753
Média	0,1152	0,1724	0,3461	0,4033	0,2823

Tal fato pode ser observado analisando a variação do verde nas imagens, sendo que este

teor, representado pelo Verde normalizado (Gn), variou de 0,0222 (diferença entre máximo e mínimo) gerando uma variação maior no SAVI do que no MPRI. Ao calcular a correlação de Pearson, também pode ser observada essa maior sensibilidade do SAVI ao verde, pois sua correlação foi levemente maior do que a do verde com o MPRI (0,9841 para o SAVI e 0,9839 para o MPRI). Já em relação ao vermelho normalizado (Rn) a correlação foi levemente maior com o MPRI, 0,9824, do que com o SAVI (0,9823).

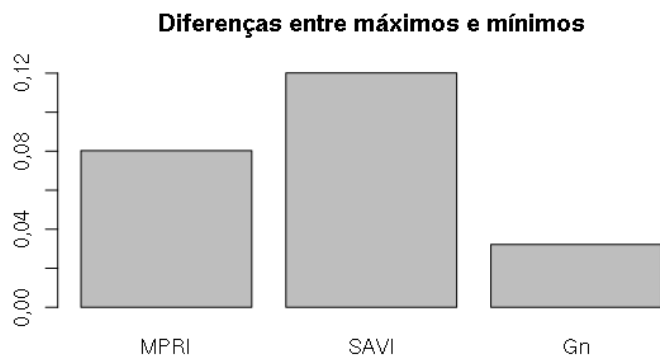


Figura 1. Diferença entre máximo e mínimo dos diferentes índices

Os índices normalizados das cores podem ser entendidos como a porcentagem de cada cor na imagem. Assim, na média das oito amostras, o verde representa 39% da composição da imagem, o vermelho aproximadamente 34% e o azul 27%. O verde compõe a maior parte da imagem, pois é influenciado pela cobertura vegetal em relação ao solo. Assim, índices que possuem maior sensibilidade à variação do verde representam e indicam mais precisamente a variação da cobertura vegetal na localidade avaliada.

#### 4. Conclusões

O SAVI calculado apenas com valores das bandas de cor na faixa do visível apresentou alta correlação com o índice MPRI, também adaptado substituindo-se o infravermelho pelo verde, indicando assim que essa adaptação também é válida para o SAVI. Este novo índice apresentou também maior sensibilidade nos dados, diferença entre os valores mínimos e máximos calculados, bem como melhor correlação com o verde na imagem indicando assim uma melhor caracterização da cobertura vegetal da área analisada.

#### Agradecimentos

À CAPES, aos Departamentos de Engenharia de Biosistemas da ESALQ e da FZEA/USP, bem como ao GEBio – Sistemas e Engenharia (Grupo de estudos em Engenharia de Biosistemas)

#### Referências

- CASADESÚS, J., KAYA, Y., BORT, J., NACHIT, M. M., ARAUS, J. L., AMOR, S., ...  
 VILLEGAS, D. Using vegetation indices derived from conventional digital cameras as selection criteria for wheat breeding in water-limited environments. *Annals of Applied Biology*, 150(2), 227–236. 2007.
- EPIPHANIO, J.C.N., & HUETE, A.R. Dependence of NDVI and SAVI on sun/sensor geometry and its effect on fAPAR relationships in Alfalfa. *Remote Sens Environ* 51: 351-360. 1995.
- GITELSON, A., KAUFMAN, Y., & MERZLYAK, M. Use of a green channel in remote sensing of global vegetation from EOS-MODIS. *Remote Sensing of Environment*, 58, 289 – 298. 1996.
- HUETE, A.R. A soil-adjusted vegetation index (SAVI). *Remote Sensing of Environment*, v.25, p.295309. 1988.

- KEFAUVER, S. C., EL-HADDAD, G., VERGARA-DIAZ, O., & ARAUS, J. L. RGB picture vegetation indexes for High-Throughput Phenotyping Platforms (HTPPs) (C. M. U. Neale & A. Maltese, eds.). 2015.
- ROUSE, J.W., HAAS, R.H., SCHELL, J.A. & DEERING, D.W. Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. In 3rd ERTS Symposium, NASA SP-351 I, pp. 309–317. 1973.
- YANG, Z.; WILLIS, P.; MUELLER, R. Impact of Band-Ratio Enhanced AWIFS Image to Crop Classification Accuracy. In: Pecora – The Future of Land Imaging... Going Operational, 17. 2008, Denver, Colorado, USA. Proceedings... Maryland: (ASPRS). 2008.
- ZHOU, B., ELAZAB, A., BORT, J., VERGARA, O., SERRET, M. D., & ARAUS, J. L. Low-cost assessment of wheat resistance to yellow rust through conventional RGB images. Computers and Electronics in Agriculture, 116, 20–29. 2015.

**UTILIZAÇÃO DE SENSORES ÓPTICOS ATIVOS NA IDENTIFICAÇÃO DA  
VARIABILIDADE ENTRE OS DOIS LADOS DA PLANTA DE CAFÉ**L. F. Meirelles<sup>1,\*</sup>, M. Martello<sup>2</sup>, P.G. Molin<sup>1</sup>, J. P. Molin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Rodovia Lauri Simões de Barros, km 12 - SP-189 - Aracaçu, Buri - SP, 18290-000

<sup>2</sup> Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", ESALQ/USP, Avenida Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, SP

\* Autor correspondente, e-mail: luarafmeirelles@hotmail.com

**Resumo:** Com destaque no setor do agronegócio, a produção cafeeira possui um importante papel socioeconômico no Brasil, pela sua liderança em exportações mundiais. A busca pela otimização da produção do café exige a utilização de métodos de monitoramento mais eficientes. Buscou-se neste trabalho utilizar sensores ópticos ativos para verificar, por meio de índice de vegetação, a variabilidade de lados opostos das plantas em uma lavoura de café. A área experimental localiza-se em Patos de Minas – MG, em uma parcela de 12,5 ha. Utilizando-se dois sensores ativos que realizam a leitura do índice diferença normalizada pelo “Red-Edge” (NDRE) e um receptor de sistema de navegação global por satélite (GNSS) montados em um trator agrícola. Os dados foram processados e filtrados conforme o sentido da máquina e com o lado da planta. Os resultados indicam que a face Sudoeste das fileiras de plantas possui maior valor de NDRE quando comparada com a face Nordeste, constatando que os sensores permitiram identificar diferentes comportamentos no índice de vegetação em lados opostos das fileiras, além de destacar a variabilidade do índice ao longo da lavoura.

**Palavras-chave:** índices de vegetação, NDRE, variabilidade espacial, sensores ópticos ativos.

***USING ACTIVE OPTICAL SENSORS IN IDENTIFYING VARIABILITY BETWEEN TWO  
SIDE COFFEE PLANTS***

**Abstract:** In the agribusiness sector, coffee production has an important socioeconomic role in Brazil, due to its leadership in world exports. The search for the optimization of coffee production requires the use of more efficient monitoring methods. The objective of this work was to use active optical sensors to verify through vegetation index, the variability of opposite sides of plants in a coffee plantation. The experimental area is located in Patos de Minas - MG, in a plot of 12.5 ha. Using two active sensors that read the Red-Edge normalized difference index (NDRE) and a global navigation satellite system (GNSS) receiver installed on a farm tractor. The data were processed and filtered according to the machine direction and the plant side. The results indicate that the Southeast has higher NDRE value when compared to the Northwest side, noting that the sensors allowed to identify different behaviors of vegetation index on opposite sides of the rows, besides highlighting the variability of the index over the crop.

**Keyword:** vegetation index, NDRE, spatial variability, active optical sensors.

**1. Introdução**

A cultura cafeeira assume um importante papel socioeconômico, já que o Brasil lidera as exportações mundiais, representando 30% do mercado internacional. O País é também o maior produtor e o segundo maior consumidor do produto (ABIC, 2019).

Estudos mostram que em uma lavoura de café é possível identificar comportamentos morfofisiológicos diferentes de lados opostos de uma mesma planta. Esse fator pode estar relacionado com as condições climáticas, condições edáficas, declividade, dentre outros



(BICALHO *et al.*, 2005, OLIVEIRA *et al.*, 2012). Compreender um sistema complexo de produção, como o cafeeiro, exige a utilização de métodos para monitoramento mais eficientes do que os usados convencionalmente. Diante disso, o uso de sensores em campo pode auxiliar no entendimento da variabilidade espacial na cultura do café, além de permitir o monitoramento e o gerenciamento dessas áreas (MOREIRA *et al.*, 2007). Sensores ópticos ativos são capazes de realizar avaliações de comportamento espectral de uma forma não invasiva, gerando alta densidade de dados quando coletados de maneira cinemática (DELLINGER; SCHMIDT; BEEGLE, 2008).

Nesse sentido o objetivo do trabalho foi utilizar sensores ópticos ativos acoplados em um trator agrícola para coleta de dados em uma lavoura comercial de café, visando inicialmente verificar, com o uso de índices de vegetação, a possibilidade em diferenciar a resposta da cultura em ambos os lados das plantas.

## 2. Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no cerrado brasileiro, Mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, na microrregião de Patos de Minas, MG. Segundo Alvares (2013), o clima do local é classificado como Cwb, sendo um clima subtropical com altitude, onde os invernos são secos e os verões amenos, sua precipitação e temperatura média são de 1.165 mm e 22,8°C respectivamente.

A área em estudo possui 12,5 ha de produção de café comercial Catuí 144 com espaçamento de 4 m entre fileiras e 0,5 m entre planta, sentido de fileiras de cultivo de leste-oeste, com 13 anos de idade, o sistema de irrigação é por gotejamento e a colheita dos grãos é realizada de forma mecanizada. Foram utilizados dois sensores ópticos ativos *Crop Circle ACS 430* (Holland Scientific, Lincoln, NE, EUA), embarcados em um trator agrícola para a obtenção de dados, à altura de 1,37m em relação ao solo, em lados opostos, em uma estrutura na traseira do trator (especificações na Tabela 1).

Na mesma estrutura foi embarcado um receptor de Sistema de Navegação Global por Satélite - GNSS (*Global Navigation Satellite System*) responsável por determinar a posição geográfica de cada dado coletado para cada um dos sensores. A esquematização da montagem dos sensores está apresentada na Figura 1.



Figura 1. A) Sensores montados no trator, B) Sentido de posição das plantas de acordo com a sua face.

Os sensores coletaram dados a uma frequência de 5Hz e considerando que o trator se deslocou a uma velocidade de 1,5 a 1,6 m s<sup>-1</sup>, obteve-se aproximadamente 1 ponto a cada 0,3 m. As características dos sensores utilizados são especificadas na Tabela 1.

Tabela 1. Informações sobre os sensores

Especificação	Crop Circle ACS 430
Fabricante (local)	Holland Scientific (Lincoln, NE, EUA)
Fonte Luminosa	Matriz de LED policromática modulada 670 nm (RED)
Bandas Espectrais	730 nm (Red-Edge) 780 nm (NIR)
Altura do sensor	1,37 m
Posição no trator	Vertical
Faixa sensoriada	0,5 – 1,00 m

Os dados gerados pelos sensores possibilitaram a obtenção de índices de vegetações, como o NDRE (*Normalized Difference Red-Edge* - diferença normalizada pelo “Red-Edge”), que avalia a atividade de clorofila na planta, podendo ser obtida conforme a equação 1.

$$NDRE = \frac{NIR - REEDGE}{NIR + REEDGE} \quad (\text{eq. 1})$$

Sendo:

NIR: Reflectância no infravermelho próximo;

RED-EDGE: Reflectância na banda do *Red-Edge*.

Todos os dados coletados de NDRE foram, filtrados, a fim de organizá-los de acordo com a posição dos sensores e o lado correspondente da planta, conforme o sentido de deslocamento do trator entre as fileiras da cultura, excluindo pontos de carregadores e manobras de cabeceira, após a filtragem os dados foram interpolados. Os lados direitos e esquerdos das plantas, foram denominados como sendo Nordeste e Sudoeste respectivamente, esses nomes foram atribuídos para direcionamento das fileiras.

### 3. Resultados e Discussão

A partir da estatística descritiva dos dados obtidos tanto do lado sudoeste como o nordeste através dos sensores, foi possível observar que a variável analisada apresenta comportamentos diferentes nos lados opostos. Como se pode verificar na Tabela 2, os resultados mostram que o lado Sudoeste das plantas é o que apresentou os maiores valores de média, com diferença significativa em comparação ao lado Nordeste.

Tabela 2. Estatística descritiva dos dados obtidos pelos sensores, para cada lado da planta.

	N	Mínimo	Máximo	Média <sup>1</sup>	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação
Nordeste	37919	0,029	0,721	0,356 (a)	0,045	0,127
Sudoeste	36910	0,001	0,728	0,433 (b)	0,047	0,110

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Na Figura 2 apresentam-se os valores de NDRE, do lado nordeste (Figura 2A) e sudoeste (Figura 2B) da lavoura, com valor de escala baseado no lado com menor média (nordeste), sendo possível observar a diferença de variabilidade nas respostas do índice de vegetação em cada lado. Observa-se que o lado sudoeste apresentou os maiores valores de NDRE, quando comparado com o lado nordeste, sendo assim é notável a diferença dentro de uma mesma área com as mesmas plantas. Na Figura 3 apresentou-se em outra escala de valores com base no lado de maior média (sudoeste), o que mostra a variabilidade presente.

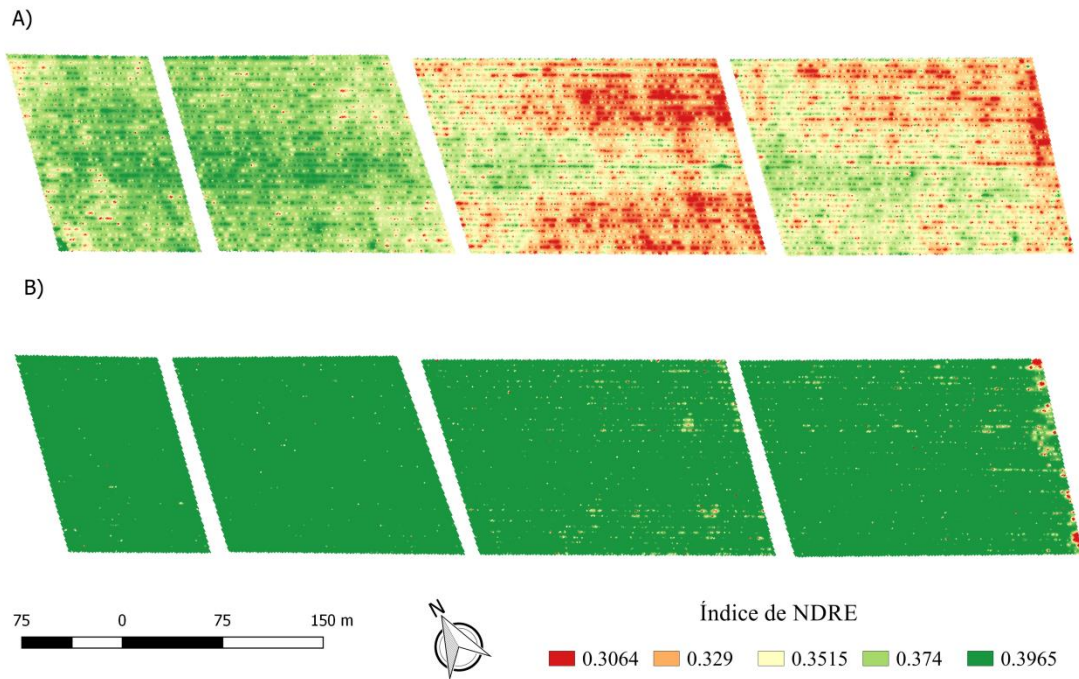


Figura 2. A) Lado Nordeste; B) Lado Sudoeste. Diferença de respostas espectrais na avaliação do NDRE, em ambos os lados da cultura do café, baseado na escala de menor valor (face nordeste).

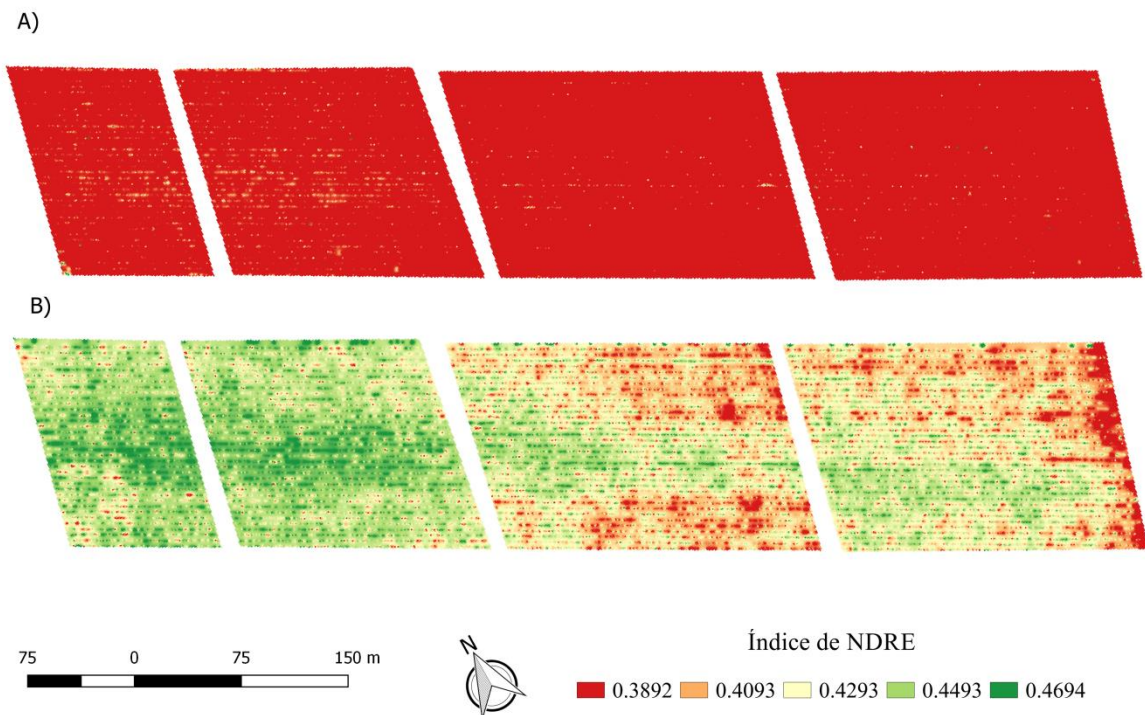


Figura 3. A) Lado Nordeste; B) Lado Sudoeste. Diferença de respostas espectrais na avaliação do NDRE, em ambos os lados da cultura do café, baseado na escala de maior valor (face Sudoeste).

Como se pode observar as duas figuras apresentam uma diferença entre si, no entanto observa-se uma semelhança entre as regiões com baixo e alto valor de índice a cada lado quando comparado a variação. Essa diferença entre os lados da cultura do café que o sensor óptico ativo foi capaz de diferenciar, já foi indicada por outros autores. Oliveira *et al.* (2012), em seu estudo verificaram que as disposições das fileiras da cultura interveriam na produtividade de café. Segundo

os mesmos autores a lavoura apresentava variações consideráveis nas faces opostas de uma mesma fileira, concluindo que os melhores sentidos das ruas dos cafezais são no sentido leste-oeste e nordeste-sudoeste. Bicalho *et al.* (2005) também observaram que a cultura do café apresentava diferentes respostas de produtividade em lados opostos de uma mesma planta, percebendo que a lado que recebia apenas o sol da manhã apresentava maior produtividade do que o lado que recebia o sol da tarde.

O uso do sensor para mensurar índices de vegetação possibilitou observar um comportamento diferenciado das plantas de café quando avaliadas suas faces opostas, mesmo cultivadas em fileiras com direcionamento indicado como preferencial (leste-oeste). Ao mesmo tempo, é notável a desuniformidade do NDRE ao longo da lavoura. Pressupõe-se ser a indicação de comportamento fisiológico das plantas, o que implica em mais investigações, especialmente dedicadas à identificação dos causadores de tal comportamento. Observa-se, portanto, que o uso de tecnologia de sensoriamento das plantas na cultura do café é promissor, sendo necessários estudos mais avançados em busca de relações entre causas e efeito.

#### 4. Conclusões

Com o uso dos sensores ópticos ativos foi possível identificar a variabilidade de índices de vegetação em lados opostos da cultura do café e ao longo da lavoura. A utilização dessa técnica é promissora e gera demanda por investigações que levem às causas de tais variabilidades de comportamento fisiológico das plantas.

#### Referências

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ (ABIC). Indicadores da indústria de café no Brasil, 2019.
- ALVARES, C. A et al. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- BICALHO, G. O. D; ALVES, J. D; LIVRAMENTO, D.E; BARTOLO, G. F; FALEIROS, S. C; GUERRA NETO, E. G. Direcionamento das linhas de plantio em diferentes orientações cardeais e seus reflexos sobre a produtividade de cafeeiros. 2005.
- DELLINGER, A. E; SCHMIDT, J. P; BEEGLE, D. B. Developing Nitrogen Fertilizer Recommendations for Corn Using an Active Sensor. *Agronomy Journal*, Vol. 100, Issue 6, 2008.
- MOREIRA, M. A; BARROS, M. A; FARIA, V. G. C; ADAMI, M. Uso da geotecnologia para monitorar a cafeicultura brasileira – Fase II São Paulo e Minas Gerais. 2017.
- OLIVEIRA, K. M. G; CARVALHO, L. G. de; LIMA, L. A; GOMES, R. C. C. Modelagem para a estimativa da orientação de linhas de plantio de cafeeiros. *Eng. Agríc.*, Jaboticabal, v.32, n.2, p.293-305, mar./abr. 2012.

**ÍNDICE RELATIVO DE CLOROFILA NO ARROZ ESPECIAL IRRIGADO COM  
EFLUENTE TRATADO DE LATICÍNIO**L. C. Menegassi<sup>1,\*</sup>, T. M. Gomes<sup>2</sup>, F. Rossi<sup>2</sup>, K R. N. Batista<sup>2</sup>, C. Valverde<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Engenharia de Sistemas Agrícolas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba

<sup>2</sup> Engenharia de Biosistemas, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Campus Fernando Costa, Universidade de São Paulo, Pirassununga

\* Autor correspondente, e-mail: luana.menegassi@usp.br

**Resumo:** A medição indireta dos índices relativos de clorofila pode ser uma ferramenta para monitorar o estado nutricional das culturas, em diferentes fases do desenvolvimento. Dessa forma, o objetivo foi avaliar os índices relativos de clorofila, em dois cultivares de arroz especial irrigado, em duas fases fenológicas, em diferentes condições de umidade do solo e fontes de água. O experimento foi conduzido, por 156 dias após o semeio (DAS), em casa de vegetação e o delineamento experimental em blocos ao acaso (2x2x2), com 4 repetições. Os tratamentos foram duas cultivares: arroz japonês (IAC 400) e arroz preto (IAC 600), duas umidades de solo: capacidade de campo e saturação, e duas fontes de água: água de torneira e efluente de laticínio tratado por sistema anaeróbio. Foram determinados os índices relativos de clorofila A, B e total, por medidor portátil. Conclui que o monitoramento do índice relativo de clorofila é variável nas fases fenológicas, nos diferentes cultivares e o aporte de nitrogênio pelo efluente do laticínio incrementou o índice de clorofila, em solos com umidade na capacidade de campo.

**Palavras-chave:** reuso agrícola, águas residuárias, clorofilômetro, nitrogênio.

**CHLOROPHYLL RELATIVE INDEX OF IRRIGATED SPECIAL RICE WITH DAIRY  
TREATED EFFLUENT**

**Abstract:** The indirect measurement of chlorophyll indices can be a tool to monitor the nutritional status of irrigated crops with wastewater in different physiological phases and genotypes. The objective was to evaluate chlorophyll index in two special rice cultivars, in two physiological phases, by irrigation in different soil moisture conditions and water sources. The experiment was carried out, for 156 days after sowing in greenhouse and the experimental design was done in randomized blocks (2x2x2), with 4 replicates. The treatments used were two cultivars: Japanese rice (IAC 400) and black rice (IAC 600), two soil moisture: field capacity and saturated and two water sources: tap water and effluent from dairy treated by anaerobic system. Chlorophyll A, B and total relative indices were determined by portable measurements. Concludes that monitoring of chlorophyll relative index is variable in the physiological phases in the different cultivars and the nitrogen intake by dairy effluent increased chlorophyll index in soils in the field capacity.

**Keywords:** agricultural reuse, wastewater, chlorophyll meter, nitrogen.

**1. Introdução**

O reuso da água é uma estratégia para racionalizar o uso dos recursos hídricos na orizicultura e uma fonte de nutrientes para a cultura, principalmente nitrogênio. O manejo adequado da adubação nitrogenada pode melhorar a eficiência agrônômica do nitrogênio, com aumento de produtividade e reduzir possíveis impactos ambientais, associados a lixiviação.

O uso de ferramentas não invasivas, como os medidores do índice relativo de clorofila, tem sido utilizado no monitoramento das cultivares de arroz para avaliar o estado nutricional, a produtividade e o manejo da adubação nitrogenada (MORO et al., 2015; POCOJESKI et al., 2015),

em diferentes condições hídricas e nutricionais.

Dessa forma o objetivo do trabalho foi avaliar os índices relativos de clorofila, em dois cultivares de arroz especial, no perfilhamento e na emissão da panícula, irrigados em diferentes condições de umidade do solo e fontes de água.

## 2. Materiais e Métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação, localizada na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA-USP), campus Fernando Costa, Pirassununga/SP. A localização geográfica do campus é 21°59' de latitude sul e 47°26' de longitude oeste e altitude média de 635 metros. A variação da umidade relativa do ar foi de 20 % a 76% e a variação da temperatura do ar foi de 11,1 a 47,8°C, durante o experimento.

O delineamento experimental foi realizado em blocos ao acaso (2x2x2), com 4 repetições. Os tratamentos foram duas cultivares: arroz japonico (IAC 400) e arroz preto (IAC 600), duas umidades de solo: capacidade de campo (CC) e saturado (SAT) e duas fontes de água: água de torneira (AT) e efluente de laticínio tratado por sistema anaeróbio (EAN), totalizando 32 parcelas experimentais. A parcela experimental foi representada por um vaso com peso de 6 kg de solo. Foram semeadas duas sementes de arroz por vaso (01/02/2019) e conduzido até 156 dias após a semeadura, após a emergência foi realizado o desbaste e conduzida apenas uma planta por vaso.

O manejo da irrigação foi realizado por tanque Classe A, com a estimativa da evapotranspiração da cultura (ETc) e coeficiente da cultura para o arroz (Kc) (DOORENBOS; PRUIT, 1997). Nos tratamentos com efluente foi realizada diluição da lâmina de irrigação para valores de condutividade elétrica (CE) próximos de 2 dS m<sup>-1</sup>, monitorados por condutímetro portátil. O efluente utilizado foi proveniente a Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) do Laticínio Escola, localizado no próprio campus e tratado por sistema anaeróbio, seguido por desinfecção ultravioleta. A concentração média de nitrogênio total Kjeldahl e do sódio foram 131,61 ± 80,30 mg L<sup>-1</sup> e 164,00 ± 12,27 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente (BRICHI, 2018).

O solo foi analisado e corrigido segundo recomendações de van Raij et al. (1997). A adubação de cobertura foi de 100 kg ha<sup>-1</sup>, parcelada em duas aplicações, início do perfilhamento e formação do primórdio floral para os tratamentos irrigados com água.

As variáveis determinadas foram: índice relativo de clorofila (IRC) A, IRC B e IRC total, por clorofilômetro portátil, sendo realizadas duas medidas por plantas, nas folhas recém expandidas, em duas fases fenológicas: perfilhamento (45 dias após a emergência) e emissão da panícula (75 dias após a emergência). Ambas as coletas foram realizadas no mesmo horário, no período da manhã.

Os resultados foram submetidos à análise da variância, quando constatado diferença significativas (p < 0,05), foi realizado comparações de médias entre tratamentos, utilizando o programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011).

## 3. Resultados e Discussão

Na Tabela 1 são apresentados o volume de irrigação, o aporte de nitrogênio e de sódio para cada tratamento, nas duas cultivares. A condutividade elétrica média das fontes de água foram 0,05 ± 0,005 dS m<sup>-1</sup> para a AT e 1,89 ± 0,32 dS m<sup>-1</sup> para o EAN. Em ambas as cultivares, o volume de irrigação para o tratamento EANCC foram próximos para as duas fontes de água. Nos demais tratamentos, o volume de irrigação foi superior para a cultivar IAC 600. O aporte de nitrogênio nos tratamentos irrigados com efluente foi superior ao valor de 100 kg de N ha<sup>-1</sup> recomendado para a adubação de cobertura do arroz (van RAIJ et al., 1997). Assim, o reuso da água pode reduzir o uso de fertilizantes químicos nitrogenados durante o ciclo da cultura. No entanto, o elevado aporte de sódio, devido a salga no processo de fabricação dos produtos lácteos, pode ocasionar reduções na taxa de crescimento das plantas, principalmente pela redução na absorção de água, ocasionada pelo decréscimo do componente osmótico do solo (KAUR et al. 2018).

Tabela 1. Volume da irrigação em função das fontes de água e aporte de nitrogênio e sódio pelo efluente tratado de laticínio, por vaso, para as cultivares IAC 400 e IAC 600.

Tratamentos	Volume de irrigação (mL)				Aporte de nitrogênio (kg ha <sup>-1</sup> )		Aporte de sódio (kg ha <sup>-1</sup> )	
	IAC 400		IAC 600		IAC 400	IAC 600	IAC 400	IAC 600
	Água	Efluente	Água	Efluente				
EANCC	9.325	6.743	9.352	6.696	326	323	406	403
EANSAT	5.968	3.808	8.298	6.012	184	290	229	362
ATCC	14.284	-	16.246	-	-	-	-	-
ATSAT	11.063	-	14.343	-	-	-	-	-

EANCC= efluente de laticínio, umidade na capacidade de campo; EANSAT= efluente laticínio, umidade na saturação; ATCC= água de torneira, umidade na capacidade de campo; ATSAT= água de torneira, umidade na saturação; CE= condutividade elétrica (dS m<sup>-1</sup>).

O clorofilômetro mede a transmitância de luz através da folha no comprimento de onda da luz vermelha, assim, o IRC é influenciado pelas fases fenológicas e genótipo da cultura (Tabela 2).

Na cultivar IAC 400 o IRC foi superior durante a fase da emissão da panícula, enquanto na cultivar IAC 600, o IRC B foi superior durante o perfilhamento. No arroz, a exigência de nitrogênio é maior no grão, do que na folha (MALAVOLTA, 2006) e recomenda-se o parcelamento da aplicação de adubo nitrogenado, para melhor aproveitamento da planta. Assim, tais resultados refletem que as exigências nutricionais e a mobilização de nutrientes durante o ciclo da cultura são variáveis nos diferentes genótipos e durante o ciclo da cultura, não podendo ser adotado um nível crítico para todas as fases da cultura, e, o clorofilômetro pode auxiliar no monitoramento do status de nitrogênio da planta.

Tabela 2. Índice relativo de clorofila A, clorofila B e clorofila total, para os cultivares de arroz IAC 400 e IAC 600, durante o perfilhamento e a emissão da panícula.

Fase fisiológica	IAC 400			IAC 600		
	Clorofila A	Clorofila B	Clorofila total	Clorofila A*	Clorofila B	Clorofila total*
Perfilhamento	24,60 b	4,67 b	28,50 b	24,73	4,49 a	29,23
Emissão da panícula	30,57 a	5,69 a	36,27 a	22,33	3,74 b	26,08
C.V (%)	6,57	5,72	8,29	14,14	13,42	13,95

C.V (%): coeficiente de variação; \*: não significativo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Além dos fatores fisiológicos e genéticos, as condições ambientais e metodológicas, tais como espessura da folha, sombreamento, horário da coleta, temperatura e estresse hídrico podem afetar a coloração verde nas folhas (CARVALHO et al., 2012). Na Figura 1 é possível observar o índice relativo de clorofila total no perfilhamento (A e C) e emissão da panícula (B e D), para os cultivares 400 e 600, respectivamente. Houve variação nos tratamentos, nos dois cultivares, para as diferentes fases fenológicas, devido o número de plantas avaliadas por tratamento. O clorofilômetro é um equipamento sensível, principalmente, a estrutura da folha e posição da folha durante a coleta, o que justifica a realização de várias leituras, em várias plantas.

Os índices relativos de clorofila, na cultivar IAC 400, não foram influenciados pelos tratamentos durante a fase de perfilhamento, e, na cultivar IAC 600 não houve influência dos tratamentos nas duas fases avaliadas (Tabela 3).

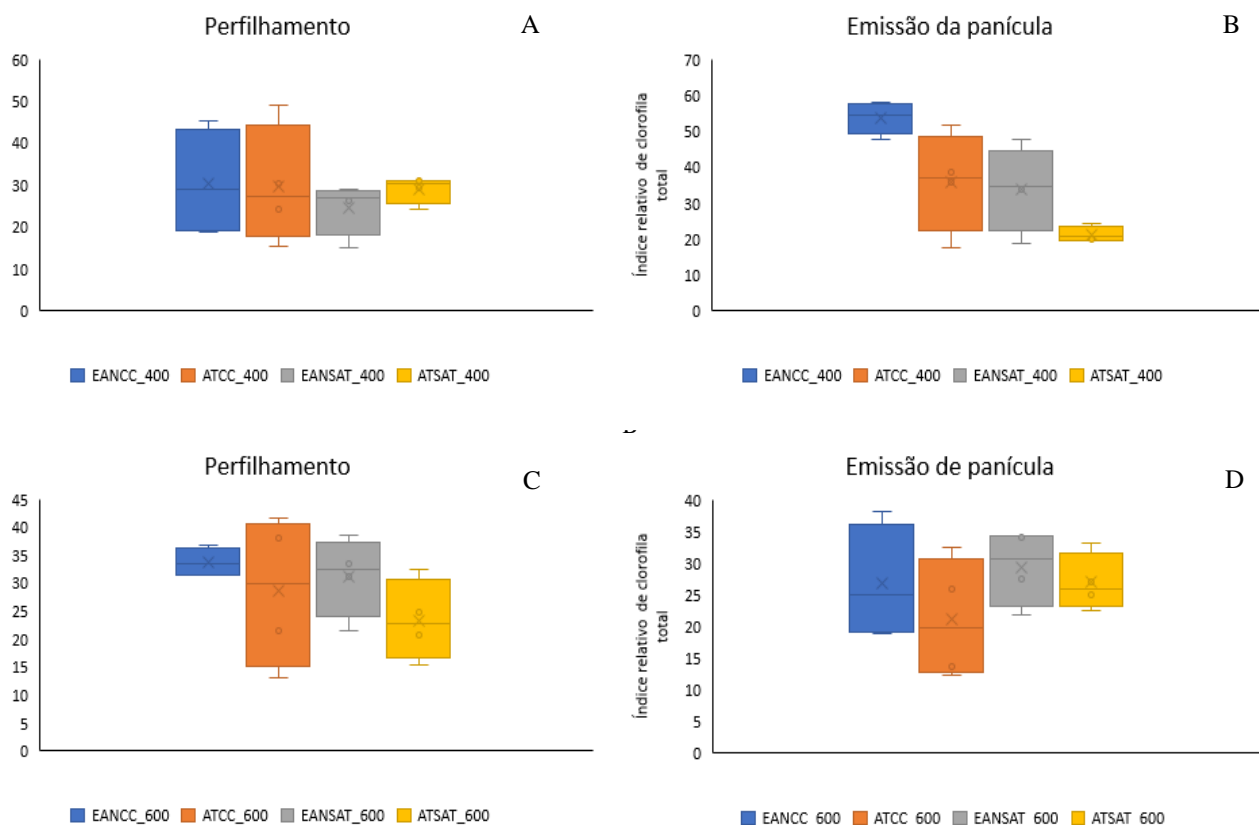


Figura 3. Índice relativo de clorofila total para os cultivares de arroz IAC 400 e IAC 600, durante o perfilhamento e a emissão da panícula.

EANCC= efluente de laticínio, umidade na capacidade de campo; EANSAT= efluente laticínio, umidade na saturação; ATCC= água de torneira, umidade na capacidade de campo; ATSAT= água de torneira, umidade na saturação

Tabela 3. Índice relativo de clorofila A, clorofila B e clorofila total, para os cultivares de arroz IAC 400 e IAC 600, em função das fontes de água e umidade do solo, durante o perfilhamento e a emissão da panícula.

IAC 400						
Tratamento	Perfilhamento			Emissão da panícula		
	Clorofila A*	Clorofila B*	Clorofila total*	Clorofila A	Clorofila B	Clorofila total
EANCC	25,44	5,07	30,51	43,45 a	10,36 a	53,81 a
EANSAT	23,75	3,76	24,62	29,30 ab	4,62 b	33,92 b
ATCC	24,47	5,36	29,84	30,63 ab	5,38 b	36,02 ab
ATSAT	24,72	4,48	29,04	18,90 b	2,42 b	21,32 b
C.V (%)	27,85	42,04	29,78	23,01	27,05	23,25
IAC 600						
	Clorofila A*	Clorofila B*	Clorofila total*	Clorofila A*	Clorofila B*	Clorofila total*
EANCC	28,37	5,34	33,71	22,69	4,12	26,81
EANSAT	26,22	5,00	31,22	25,25	4,19	29,44
ATCC	24,42	4,15	28,57	18,22	2,86	21,09
ATSAT	19,92	3,47	23,40	23,17	3,80	26,97
C.V (%)	28,46	29,63	28,29	19,85	23,92	20,22

EANCC= efluente de laticínio, umidade na capacidade de campo; EANSAT= efluente laticínio, umidade na saturação; ATCC= água de torneira, umidade na capacidade de campo; ATSAT= água de torneira, umidade na saturação; C.V (%): coeficiente de variação; \*: não significativo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Durante a emissão da panícula, na cultivar IAC 400, o aporte pelo efluente de laticínio e a umidade do solo alterou os índices de clorofilas. O teor de clorofila A e clorofila total foram



influenciados pela umidade do solo, com maior teor na condição de capacidade de campo, enquanto o teor de clorofila B foi superior para o tratamento EANCC.

O tratamento EANCC mostra que o fornecimento de nitrogênio pelo efluente de laticínio incrementou o IRC mesmo em condições de estresse hídrico e salino (CHANG et al.,2016). No entanto, estudos são necessários para correlacionar o IRC com a produção do arroz em condições adversas.

#### 4. Conclusões

Houve diferença no índice relativo de clorofila para os diferentes genótipos nas diferentes fases fenológicas do arroz especial. O aporte de nitrogênio pelo efluente de laticínio incrementou os índices relativos de clorofila a, b e total na cultivar de arroz especial IAC 400, na capacidade de campo.

#### Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

#### Referências

- BRICHI, L. (2018). Minitomateiro consorciado com adubos verdes fertirrigados com efluente tratado de laticínio. Dissertação de mestrado (ESALQ-USP). Piracicaba, 2018, 104 p.
- CARVALHO, M. A. de F.; SILVEIRA, P. M. da; SANTOS, A. B. dos. (2012). Utilização do clorofilômetro para racionalização da adubação nitrogenada nas culturas do arroz e do feijoeiro. Comunicado Técnico. Embrapa Arroz e Feijão. 14 p.
- CHANG, Z. LIU, Y., DONG, H., TENG, K., HAN, L., ZHANG, X. (2016). “Effects of Cytokinin and Nitrogen on Drought Tolerance of Creeping Bentgrass.”. PloS one, 11.
- DOORENBOS, J.; PRUIT, W. O. (1997). Necessidades hídricas das culturas. Trad. GHEYI, H. R.; METRI, J. E. C.; DAMASCENO, F. A. V. Campina Grande: UFPB, 204p (Estudos FAO: Irrigação e Drenagem, 24).
- FERREIRA, D.F. (2011). Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042.
- KAUR, V.; SHARMA, G.; KIRPALANI, C. (2018). Agro-potentiality of dairy industry effluent on the characteristics of *Oryza sativa* L. (Paddy). Environmental Technology & Innovation. 12 (3), 132-147.
- MALAVOLTA, E. (2006). Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo, Agronômica Ceres., 638p.
- MORO, A.L., BROETTO, F., MORO, E. (2015). Relação hídrica e teor de clorofila em dois cultivares de arroz submetido à deficiência hídrica e adubação silicatada. Irriga, 20 (3), 570-586.
- POCOJESKI, E., SILVA, L. S. da, KAEFER, S., MORO, V. J., GRIEBELER, G. (2015). Uso do clorofilômetro no monitoramento nutricional de arroz irrigado com vistas ao manejo da adubação nitrogenada. Revista Ceres, 62 (3), 310-318.
- Van RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (1997). (Ed.) Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 285p., (Boletim Técnico 100).

## INDICES DE REFLECTÂNCIA EM PASTAGENS SOB SISTEMAS ILP E ILPF

Lucas Perassoli Menegazzo<sup>1,\*</sup>; Nicolle Laurenti<sup>1</sup>; Caique Barbosa Santos Lima<sup>2</sup>; José Ricardo Macedo Pezzopane<sup>3</sup>; Alberto C. de Campos Bernardi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Engenharia Agrônômica, UNICEP, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Gestão e Análise Ambiental, UFSCar, São Carlos, SP,

<sup>3</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: menegazzosc@gmail.com

**Resumo:** Os índices de vegetação são importantes ferramentas para a agricultura de precisão (AP), que fornecem informações para a tomada de decisão de manejo das culturas. O planejamento dos sistemas de produção animal baseia-se na estimativa de produção e acúmulo e consumo de biomassa. Os métodos de obtenção de dados de forma rápida e com qualidade são imprescindíveis para a tomada de decisões. Estes sensores de parâmetros biofísicos vegetais indicam as variações espaço-temporais nos sistemas de produção por meio de métodos *on-the-go*, rápidos, e não destrutivos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a geração diária de índices de vegetação de pastagens em sistemas ILP e ILPF. O estudo foi conduzido em área experimental da Embrapa Pecuária Sudeste, em pastagem de capim Piatã em sistema em ILPF (com eucalipto) e ILP (sem árvores). As mediadas da reflectância do dossel da pastagem foram realizadas com o sensor Crop Circle e foram calculados o índice de diferença de vegetação normalizado (NDVI) e o índice de clorofila (ChL). Os índices NDVI e ChL seguiram tendências semelhantes, com redução dos valores e mostraram-se sensíveis para indicar a variação diária na dinâmica de pastejo na área.

**Palavras-chave:** NDVI, ChL, índices de reflectância, Crop Circle, agricultura de precisão.

**REFLECTANCE INDEXES IN PASTURES UNDER DIFFERENT MANAGING SYSTEMS**

**Abstract:** Vegetation indices are important tools for precision agriculture (PA), which provide information for crop management decision making. The planning of livestock systems is based on the estimation of biomass production and accumulation and consumption. Methods of obtaining data quickly and with quality are essential for decision making. These plant biophysical parameter sensors indicate spatiotemporal variations in production systems by rapid, non-destructive on-the-go methods. The objective of this work was to evaluate the daily generation of pasture vegetation indices in ILP and ILPF systems. The study was conducted in an experimental area of Embrapa Pecuária Sudeste in Piatã grass pasture in ILPF (with eucalyptus) and ILP (without trees). Pasture canopy reflectance measurements were performed with the Crop Circle sensor, and normalized vegetation difference index (NDVI) and chlorophyll index (ChL) were calculated. The NDVI and ChL indices followed similar trends, with decreasing values and were sensitive to indicate the daily variation in grazing dynamics in the area.

**Keywords:** NDVI, ChL, reflectance index, Crop Circle, precision agriculture.

**1. Introdução**

Os sistemas de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF) têm sido utilizados como uma estratégia de intensificação agrícola sustentável que integra atividades de cultivo de culturas anuais, árvores e pecuária na mesma área e na mesma safra (BALBINO *et al.*, 2011). É importante estudar as características e efeitos destes sistemas integrados, e as ferramentas de agricultura de precisão (AP) são úteis para realização de análises espaço temporais.

Na AP, os métodos de obtenção de dados de forma rápida e com qualidade são imprescindíveis para a tomada de decisões. Os dados obtidos a partir da reflectância dos espectros

de luz do dossel da cultura, usados para cálculo de diferentes índices que permitem a obtenção de informações sobre a situação da cultura em um curto prazo e assim, a adequação de manejo (SHIRATSUCHI et al., 2014). Dentre essas informações, destacamos a biomassa, qualidade, e ocorrência de estresses bióticos e abióticos.

O uso de sensores para propriedades do solo, ou parâmetros biofísicos vegetais tem encontrado cada vez mais aplicações nos sistemas de produção agropecuários (BERNARDI et al., 2014; BERNARDI e PEREZ, 2014). As vantagens destes sensores incluem baixo custo, sistema com configuração menos complexa e maior velocidade do processamento. O manejo da pastagem, e o planejamento dos sistemas de produção animal são essencialmente baseados na estimativa de produção e acúmulo de biomassa. Para se verificar a variabilidade espacial, a amostragem muitas vezes mais intensa é necessária, dessa forma aumentando muito os pontos de amostragem. Nessas circunstâncias, o uso de ferramentas de AP pode contribuir para automação da avaliação, de modo a otimizar o tempo e mão-de-obra, e manter a confiabilidade da estimativa.

O planejamento do manejo de pastagens em sistemas ILPF e ILP tem necessidade de obtenção de parâmetros de produção para adequação dos manejos de pastagem e dos animais na área, a partir de estimativa de acúmulo de biomassa, assim como seu consumo pelos animais durante o pastejo de forma que fique evidente as diferenças espaço-temporais a partir de características biofísicas da pastagem (BERNARDI e PEREZ, 2014). A metodologia *on-the-go*, permite que esses dados sejam imediatamente utilizados por ser de rápida aquisição, não destrutiva e independente de outras etapas metodológicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a geração diária de índices de vegetação uma pastagem em sistema ILP e ILPF.

## 2. Material e Métodos

O estudo foi conduzido em área experimental (Figura 1A) da Embrapa Pecuária Sudeste em São Carlos, Brasil (21°57'S, 47°50'W, 860 m alt). O sistema ILPF totaliza 30 ha e inclui os sistemas (PEZZOPANE et al., 2019): i) pastagem intensiva (INT) de capim Piatã (*Urochloa brizantha*); ii) Integração lavoura-pecuária (ILP), em que um terço da área é renovada anualmente plantando milho consorciado com capim Piatã; iii) integração floresta-pecuária-floresta (ILPF) plantado com *Eucalyptus urograndis* (GG100) em fileiras simples com espaçamento de 15 m e distância de 2 m entre árvores; iv) integração de pastagem-floresta (IPF), com capim Piatã e eucalipto; v) sistema extensivo (EXT) de capim braquiária (*Urochloa decumbens*). As pastagens são manejadas em sistema rotacionado com 6 dias de pastejo e 35 dias de repouso em épocas de chuvas e secas. Os piquetes são divididos com cercas elétricas em 6 subdivisões de 0,5 ha cada com 2 repetições. Para este estudo foram selecionados 2 piquetes (Figura 1B) no sistema ILP e ILPF, ambos de pastagem de capim Piatã, e sendo um deles arborizado com eucalipto.

As medidas da reflectância do dossel da pastagem foram realizadas com o sensor *Crop Circle* e foram calculados o índice de diferença de vegetação normalizado (NDVI) e o índice de clorofila (ChL). Medidas realizadas com *Crop Circle (ACS-430)* com *datalogger GeoSCOUT (GLS-400)*, acoplado a um GPS *Garmin (GPSmap 76CSx)* (Figura 1 C e D). As medidas foram realizadas durante o pastejo dos animais nos piquetes, tendo sido realizadas no dia antes da entrada (0), e nos dias 1, 2, 4 e 6 de ocupação.

Os dados foram classificados em (NDVI; Chl) Muito alto (0,8-0,86;0,8-1,19), Alto (0,6-0,8;0,6-0,8), Médio (0,4-0,6;0,4-0,6), Baixo (0,2-0,4;-,-,2-0,4), e Muito baixo (0,17-0,2;0,16-0,2) e organizados em banco de dados georreferenciados. Os mapas foram interpolados com software ArcGIS 10.4 utilizando a técnica IDW (*Inverse Distance Weighting*) que pondera os valores de pontos reais mais próximos para o preenchimento do mapa de acordo com a distância.

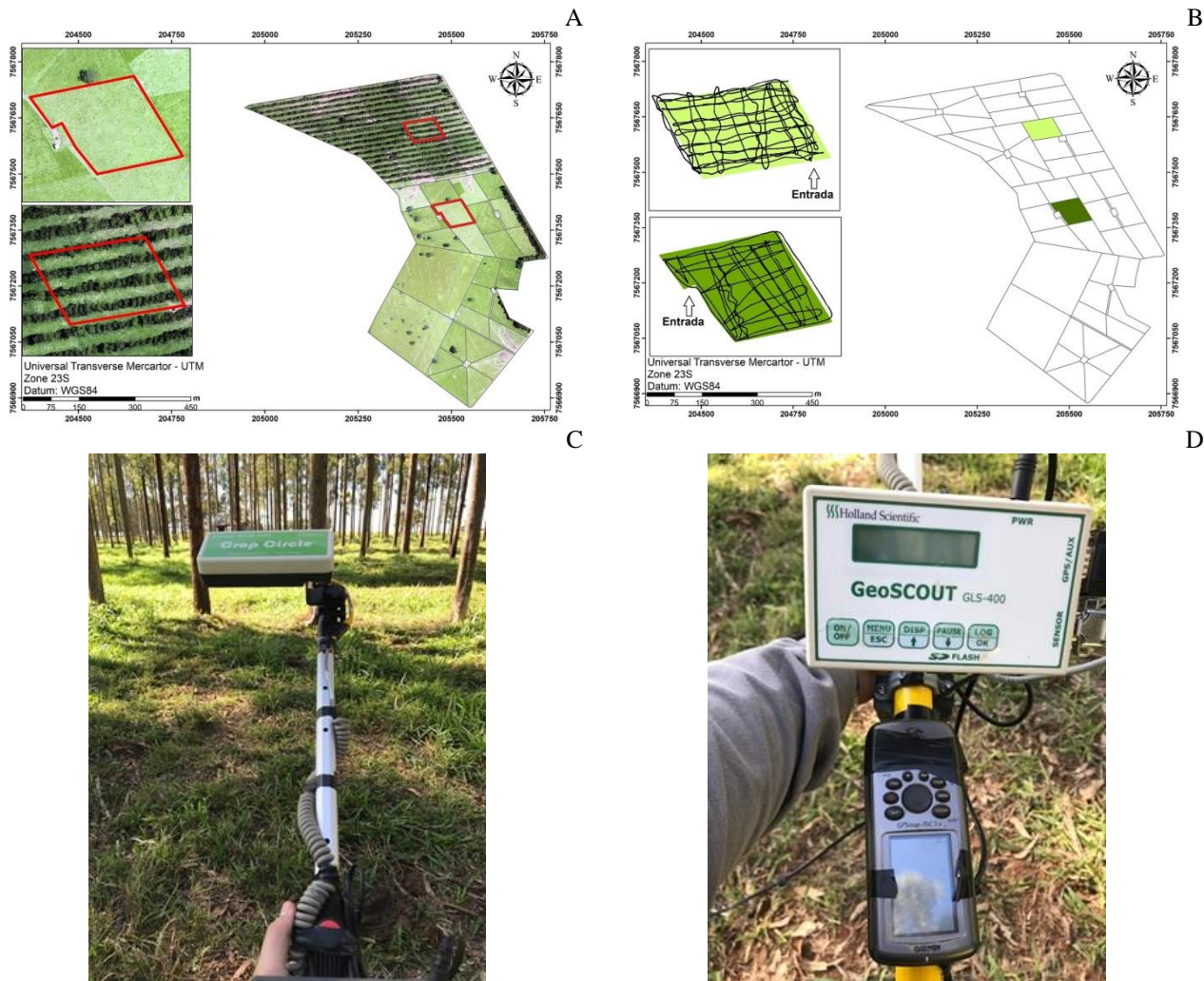


Figura 1. Área de estudo, sistema ILP e ILPF da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos - SP.

### 3. Resultados e Discussão

Na Figura 2 estão apresentados os mapas interpolados para os índices NDVI e ChL para ambos sistemas em função da ocupação do piquete pelos animais. Os índices NDVI e ChL seguiram tendências semelhantes, com redução dos valores e alteração na distribuição das classes com o pastejo pelos animais.

O NDVI no dia 0 continha 91,7% da área na classe alto e no dia 5, reduziu para 72,8% na classe médio, indicando o consumo das folhas (Tabela 1). O NDVI, tanto no sistema ILPF quanto no ILP, seguiram tendências de redução dos valores sendo que no ILPF o índice diminuiu mais significativamente entre o dia 4 e o dia 6. Já no ILP, o índice foi reduzindo gradativamente de alto para médio.

A ChL no dia 0, apresentou 54,4% da área na classe alto e no dia 5, 70,4% na classe média (Tabela 1). No sistema ILPF a ChL foi reduzindo o valor do índice e sua distribuição foi aumentando entre as classes, passando de muito alto para alto e médio. E o índice no ILP, passou das classes média e alta para a média e baixa.

Nos mapas (Figura 2) é possível verificar a dinâmica de pastejo dos animais, uma vez que no sistema ILP a entrada dos animais ocorre na região Noroeste, e no ILPF no Sudeste (Figura 1) e a maior intensidade de consumo, indicada pela redução dos índices NDVI e ChL ocorre próximo destes locais. Com o passar dos dias de ocupação há uma tendência do consumo dos animais correr na área oposta, ou seja no fundo do piquete. Até que no último dia (6) o consumo de forragem de todo piquete é igualado.

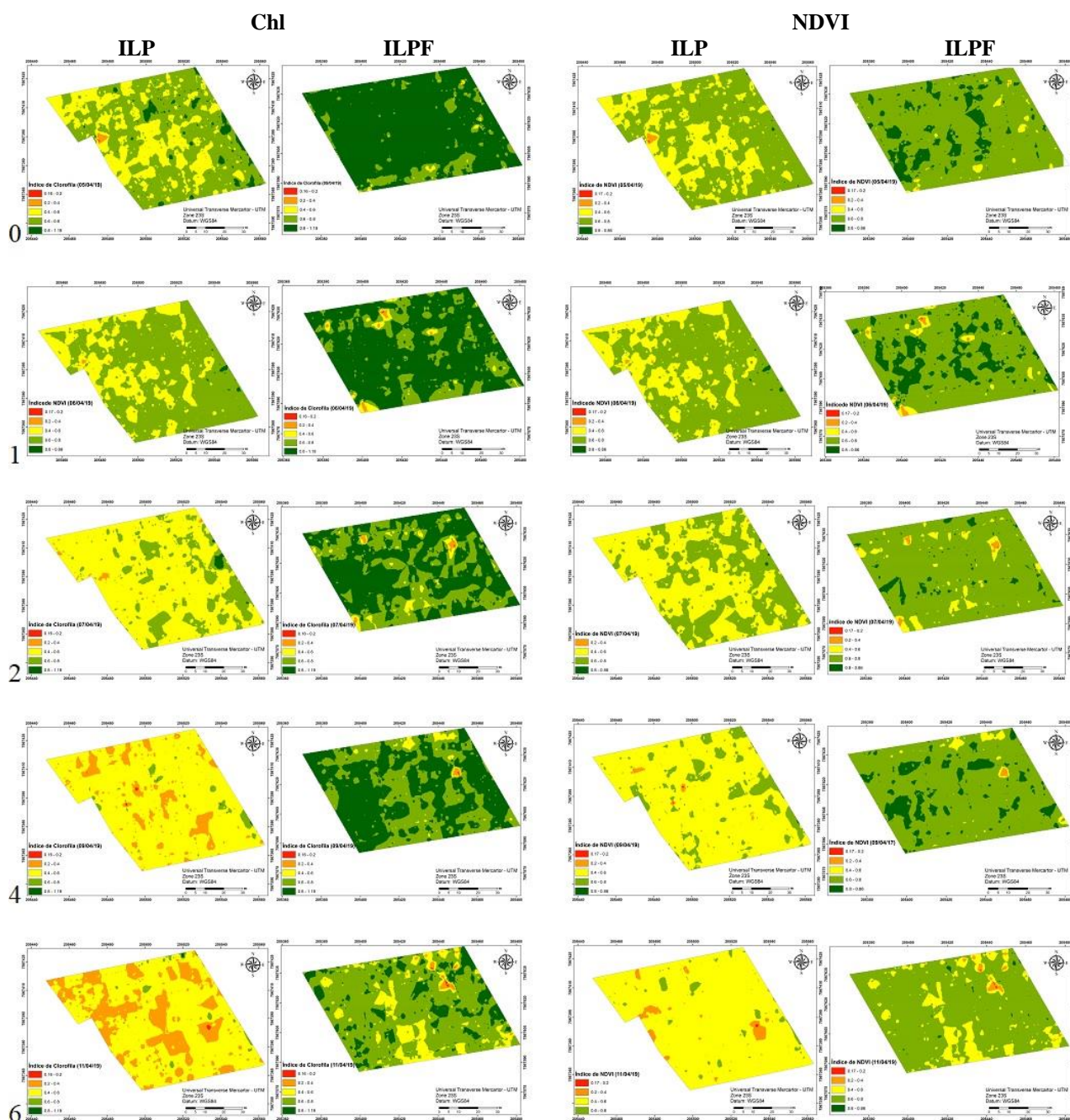


Figura 2. Mapas interpolados dos índices ChL e NDVI para a pastagem em sistema ILPF e ILP.

Tabela 1. Classes de distribuição (%) dos valores de ChL e NDVI para a pastagem em sistema ILPF e ILP.

ChL	ILPF					ILP				
	0	1	2	4	6	0	1	2	4	6
0,16 - 0,2	0,3	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1
0,21 - 0,4	0,0	2,0	0,6	0,2	1,0	0,4	1,2	0,8	11,6	28,4
0,41 - 0,6	0,6	3,0	3,0	2,2	14,0	33,5	2,0	78,4	85,9	70,0
0,61 - 0,8	11,6	20,0	39,0	39,8	69,1	61,7	33,1	20,1	2,4	1,4
0,8 - 1,19	87,5	75,0	57,4	57,8	15,8	4,3	63,7	0,7	0,0	0,1
NDVI	0	1	2	4	6	0	1	2	4	6
0,17 - 0,2	0,0	2,0%	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1
0,21 - 0,4	0,1	3,0%	0,7	0,3	1,0	0,4	0,2	0,1	0,7	3,2
0,41 - 0,6	1,9	4,0%	5,8	2,4	14,9	32,1	81,6	55,9	84,8	93,9
0,61 - 0,8	83,7	73,0	89,7	83,6	83,7	67,3	18,0	43,9	14,5	2,8
0,81 - 0,86	14,3	18,0	3,8	13,7	0,4	0,1	0,3	0,1	0,0	0,0

#### 4. Conclusões

Os índices NDVI e ChL seguiram tendências semelhantes, com redução dos valores e mostraram-se sensíveis para indicar a variação diária na dinâmica de pastejo na área.

A redução dos índices mostra a variação de biomassa que será determinante no manejo do pasto em termos de rotação e utilidade da forragem pelos animais. Ambos índices permitiram determinar de modos semelhantes essa variação e com precisão inclusive, das áreas que era esperado maior pastejo nos primeiros dias, próximos as áreas de entrada dos animais.

#### Agradecimentos

À Associação Rede ILPF e International Potash Institute (IPI) pelo suporte financeiro para realização do trabalho.

#### Referências

- BALBINO, L. C.; BARCELLOS, A. de O.; STONE, L. F. (Ed.). **Marco referencial: integração lavoura-pecuária-floresta**. Brasília, DF: Embrapa, 2011. 130 p.
- BERNARDI, A. C. C.; CAMPANA, M.; BETTIOL, G. M.; OLIVEIRA, P. P. A.; INAMASU, R. Y.; RABELLO, L. M. Variabilidade espacial de propriedades do solo, índices de vegetação e produtividade de pastagem sob manejo intensivo. In: BERNARDI, A. C. C.; NAIME, J. de M.; RESENDE, A. V. de; BASSOI, L. H.; INAMASU, R. Y. (Ed.). **Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. p. 513-522.
- BERNARDI, A.C.C.; PEREZ, N.B. Agricultura de precisão em pastagens. In: BERNARDI, A.C.C.; NAIME, J.M.; RESENDE, A.V.; BASSOI, L.H.; INAMASU, R.Y. (Ed.). **Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. p.492-499.
- FILIPPINI ALBA, J. M. Modelagem SIG em agricultura de precisão: conceitos, revisão e aplicações. In: BERNARDI, A. C. C.; NAIME, J. M.; RESENDE, A. V.; BASSOI, L. H.; INAMASU, R. Y. (Ed.). **Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. p. 84-95.
- PEZZOPANE, J. R. M.; BERNARDI, A. C. de C.; BOSI, C.; OLIVEIRA, P. P. A.; MARCONATO, M. H.; PEDROSO, A. de F.; ESTEVES, S. N. Forage productivity and nutritive value during pasture renovation in integrated systems. **Agroforestry Systems**, v.93, p.39-49, 2019.
- SHIRATSUCHI, L. S.; BRANDAO, Z. N.; VICENTE, L. E.; VICTORIA, D. de C.; DUCATI, J. R.; OLIVEIRA, R. P. de; VILELA, M. de F. Sensoriamento remoto: conceitos básicos e aplicações na agricultura de precisão. In: BERNARDI, A. C. C.; NAIME, J. de M.; RESENDE, A. V. de.; BASSOI, L. H.; INAMASU, R. Y. (Ed.). **Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 596 p. p. 58-73

**MODELO PARA ESTRUTURAÇÃO DE BASE DE DADOS DIGITAIS PARA  
APOIO À TOMADA DE DECISÃO EM RISCO AGRÍCOLA**Ricardo. A. Neves<sup>1,2,\*</sup>, Paulo. E. Cruvinel<sup>1,2</sup><sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP*<sup>2</sup> *Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís km 235, SP-310, 13565-905, São Carlos, SP*\* *Autor correspondente, e-mail: ricardo.alexandre@estudante.ufscar.br*

**Resumo:** Este artigo apresenta um modelo para estruturação de bases de dados digitais, para que se possa trabalhar em ambiente de Nuvem e atender às diferentes fontes de dados originadas de *Big Data*. O trabalho considera receber dados estruturados, semiestruturados e não estruturados, para uso na gestão de risco em agricultura. Sua concepção está estruturada como uma arquitetura que combina recursos de *Data Mart*, *Data Warehouse (NoSQL)* e de *Data Lake* para dar suporte adequado à tomada de decisão, por meio da descoberta do conhecimento e fazendo uso de algoritmos para mineração de dados por meio de recursos de aprendizado de máquina. A configuração apresentada atende aos diversos cenários que envolvem dados agrícolas, obtidos a partir de sensores em múltiplas modalidades.

**Palavras-chave:** *big data*, *data warehouse*, fusão de dados, gerenciamento de risco agrícola

**COMPUTER ALGORITHM FOR DATA STRUCTURING USED IN AGRICULTURAL RISK  
MANAGEMENT**

**Abstract:** This paper presents a model for digital databases structuring based on the use of a cloud environment and bigdata from different sources. Such model considers receiving structured, semi-structured and unstructured data for agricultural risk management. Its design was organized taken into account an architecture that combines Data Mart, Data Warehouse (NoSQL), and Data Lake capabilities for support decision making through knowledge discovery and the use of data mining. Besides, Machine Learning resources were used for the data mining. The configuration presented meets the various scenarios involving agricultural data, obtained from sensors in multiple modalities.

**Keywords:** big data, data warehouse, data fusion, agricultural risk management

**1. Introdução**

Por meio da utilização de tecnologias de *Business Intelligence (B.I.)*, providas por processos sistematizados e automatizados para apoio ao processo de tomada de decisão, é notado que a quantidade, a escalabilidade e a heterogeneidade são características que compõe a realidade das bases de dados a nível mundial, nos mais variados segmentos, sejam estes governamentais, da produção industrial ou agrícola. Desta forma, se faz necessário uma escolha assertiva na adoção de métodos, ferramentas e, muitas vezes, da contratação de uma consultoria especializada para a obtenção de resultados de sucesso (ALEXANDRA MARIA IOANA; VLAD; RAMONA, 2016).

De acordo com Sosinsky (2011) há bons produtos comerciais, atualmente, que oferecem recursos para se trabalhar com *Big Data* no ambiente de Nuvem. Tais recursos, têm se mostrado como opção interessante, por meio do fornecimento de serviços elásticos, ou seja, por demanda, para projetos com diversidade de dados caracterizada por tipos, formatos, fontes, assim como a quantidade (volume). No ambiente em Nuvem são oferecidas arquiteturas distribuídas, paralelas ou seu uso integrado, cujas características principais são o alto desempenho, a alta disponibilidade, a redundância dos dados, a variedade de ferramentas automatizadas e integradas com a possibilidade de configuração customizada e, principalmente, com custo acessível para a maioria dos projetos.

No contexto de análise de dados, por meio de bancos de dados relacionais, aplicada ao auxílio às tomadas de decisões corporativas, a partir de grandes massas de dados estruturados e divididas por assuntos, sendo muito comum a utilização de uma estrutura de *Data Warehouse* (*DW*). Essa abordagem contempla a construção de modelo de dados, a partir de uma visão multidimensional, utilizando-se de estruturas dimensionais definidas como cubos de dados *OLAP* (*On-Line Analytical Processing*). Essas estruturas podem variar em diferentes arquiteturas, além de dispor de ferramentas *OLAP* utilizadas para operacionalizar os cubos em suas várias dimensões. No *DW* é utilizado um modelo dimensional, composto por uma tabela central, chamada tabela fato, junto a um conjunto de tabelas relacionadas chamadas de dimensões. A tabela fato contém o que será analisado e as dimensões armazenam as perspectivas de análise sobre tais fatos (HARINARAYAN; RAJARAMAN; ULLMAN, 1996; SINGH, 1998; KIMBALL; ROSS, 2013).

Para a construção do modelo de *DW* há diferentes abordagens que podem ser consideradas, visto que cada uma delas é sempre realizada diante de um conjunto de etapas a serem cumpridas pelo entregador. Porém, para todas as abordagens, existe a necessidade de conhecimentos específicos, nos quais o entregador tem que se adequar. Quando o entregador não tem total domínio desses conhecimentos, desenvolver um modelo de dados dessa natureza torna-se uma tarefa muito complicada e propensa a constantes erros e insatisfações, situações essas que podem ser verificadas diante da validação dos resultados obtidos, comparando-os com os objetivos propostos pelos requisitos fornecidos pelo demandante (INMON, 1997; SINGH, 1998; KIMBALL; ROSS, 2013).

As atualizações de um *DW* são feitas por meio de fontes externas e internas, utilizando de extração, transformação e carga (*ETL - Extract, Transform and Load*). Essas informações são inseridas no repositório de metadados, o qual também contém dados sobre o *DW*, dos *Data Marts* e das aplicações que os acessam. A parte final do processo fica a cargo do conjunto de programas que atuam na análise dos dados contidos no *DW* (INMON, 1997; KIMBALL; ROSS, 2013).

*Big Data* é tipicamente não estruturado (como texto, vídeo, áudio) ou semiestruturado (como *web-logs*, *e-mails*, *tweets*). Dados não estruturados podem ser entendidos como um documento de texto e não possuem estrutura explícita, porém dados semiestruturados podem envolver alguma estrutura. A partir da definição de *Big Data*, esta tecnologia se encaixa nas práticas existentes do *DW* corporativo. As novas tecnologias, como o *Hadoop*, desenvolvidas para grandes volumes de dados, tornam-se naturalmente parte do arsenal dos desenvolvedores de *ETL*, a partir de uma variedade de fontes de dados. Com esses avanços tecnológicos o *Big Data*, apesar de seus desafios, tornou-se outro tipo de conjunto de dados de origem para o *DW*, em sistemas de auxílio à tomada de decisão (HU, 2015; JUKIC et al., 2015).

Diante dos vários cenários que envolvem as mais diversas metodologias para interpretação e análise de dados para tomada de decisão, atualmente a solução de *DW* tem sido utilizada a partir de fontes de *Big Data*. A integração de tais tecnologias deve ser cuidadosamente analisada, pois a estrutura de *DW* exige uma adaptação, quando o foco não é a utilização de dados puramente estruturados. Assim, quando o conjunto de dados envolvidos são semiestruturados e não estruturados, além do uso de bancos de dados relacionais ou transacionais, como nas abordagens de negócios tradicionais, a recomendação é a utilização de um banco de dados *NoSQL* (*Not Only SQL*), junto à estrutura do *DW* (CHEVALIER et al., 2015; ALEKSEEV et al., 2016).

Muitas abordagens têm sido apresentadas na literatura sobre tais adaptações. Porém, a abordagem de Solodovnikova e Niedrite (2018) se destacou por apresentar uma arquitetura, de forma que suas características se mostraram híbridas e consistentes. A arquitetura de *Big Data Warehouse* apresentada mostrou a manutenção das boas práticas da arquitetura tradicional do *DW*. Segundo Kimball e Ross (2013), essa arquitetura, também por trabalhar com os dados de origem de diversas fontes fazendo uso de *Wrappers*, pode atuar como um software *middleware* em *N* níveis de latência, na recepção das fontes de dados. Assim, a partir de uma estrutura definida como *Data Highway*, cada nível é alimentado com dados do nível anterior. No último nível, os dados são agregados e integrados para serem inseridos no repositório *Data Lake*, de forma que esse repositório facilite o pré-processamento e permita a integração dos dados para a carga, na estrutura de *Data Warehouse*. Logo, faz uso de um modelo de dados multidimensional estrela.



Segundo Zhou (2003) a mineração de dados possui uma natureza multidisciplinar e que, por esta razão, recebe diversas contribuições das comunidades de banco de dados, aprendizado de máquina, estatística, recuperação da informação, visualização de dados, computação distribuída e paralela, sendo que das três primeiras comunidades são recebidas as principais contribuições. A mineração de dados pode utilizar-se de técnicas de banco de dados, de aprendizado de máquina e estatística e, em cada abordagem, há aspectos importantes que devem ser observados, tais como: a eficiência, eficácia e validade, respectivamente. Dessa forma, esse autor considerou que o processo de mineração de dados é bem-sucedido quando todos esses aspectos forem levados em conta.

Por outro lado, a partir da disponibilidade de informações Wu e colaboradores afirmaram que quando as mesmas são de diferente natureza necessitam de uma etapa de integração para que possam ser utilizadas conjuntamente. Tal integração trata-se da fusão de informações de fontes heterogêneas, a partir de diferentes representações conceituais, contextuais e tipográficas. O conjunto de dados fundidos é diferente de um grande conjunto combinado e os pontos no conjunto de dados fundidos contêm atributos e metadados que podem não ter sido incluídos para os mesmos nos conjuntos dos dados originais. A integração é utilizada tanto na mineração de dados quanto na consolidação de dados de recursos não estruturados ou semiestruturados, o que se refere a representações textuais de conhecimento e que também podem ser aplicadas ao conteúdo *rich media* (WU et al., 2013).

Este trabalho apresenta um modelo para estruturação de bases de dados digitais para fins de gestão de risco agrícola.

## 2. Materiais e Métodos

Foi utilizado o conceito de arquitetura em nuvem de alto desempenho, distribuída e considerado o uso potencial de recursos do processamento paralelo.

As bases de dados envolvem tanto dados de origem privada (imagens de drones, de aeronaves tripuladas e de satélites) como dados de origem pública (verdade de campo, dados meteorológicos, previsão do tempo, solos e de outros sensores).

### 2.1. Descrição do modelo teórico

A elaboração do modelo teórico foi estabelecida considerando-se inicialmente a coleta dos dados de diversas fontes públicas que são providas pelo governo ou órgãos de controle, e de fontes privadas (a serem adquiridas), considerando os requisitos de qualidade de dados, de acordo com o contexto agrícola. Ao saber que os dados coletados são estruturados, semiestruturados e não estruturados, estes são armazenados em uma estrutura de *Data Lake* para facilitar a manipulação e integração no processo de carga na estrutura do *DW*. A estrutura de *DW* prevê a construção de repositórios para dados divididos por assunto, chamados de *Data Mart*. Cada *Data Mart* receberá do *Data Lake* os dados referentes ao assunto a ser tratado. Após esses repositórios serem populados, esses dados serão carregados em um repositório central, no *DW*, mantendo um histórico. Os dados mais específicos, de cada assunto, e recentes deverão ficar armazenados nos *Data Marts*, cujas cargas para o repositório central podem ser realizadas, a qualquer tempo, ou programadas, conforme interesse. Assim, estes dados devem ser submetidos a um processo de preparação, que consiste em trabalhar os dados nos algoritmos de mineração, baseados na abordagem de aprendizado de máquina, a fim de se conseguir resultados mais adequados, frente à necessidade do uso de *Big Data*, pois trata-se de uma análise diferenciada, de cunho mais complexo. Essa etapa de preparação é relevante, pois se os dados não forem preparados adequadamente a extração do conhecimento e análise do problema podem ficar comprometidas. O término da etapa de preparação dos dados dará início ao refinamento, utilizando-se de filtros específicos para trabalhar a qualidade dos dados, que deve ser pautada na seleção adequada dos requisitos de qualidade, diante dos requisitos a serem considerados. De posse dos dados filtrados, na etapa de qualidade dos dados estruturados, será aplicado um algoritmo que efetuará o processo de fusão dos dados para atuar na normalização dos dados processados. Neste momento, os dados estão organizados e seu armazenamento é feito em um vetor de dados para a utilização em um modelo de decisão.

## 2.2. Delineamento experimental

A operacionalização do modelo concebido é realizada tomando por base a arquitetura customizada apresentada na Figura 1.

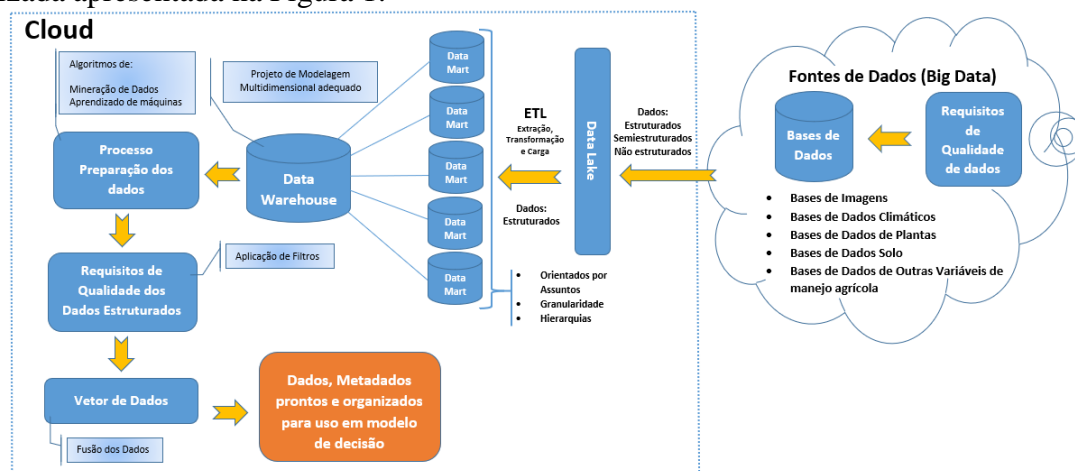


Figura 1. Arquitetura para estruturação de bases de dados digitais para operacionalização do modelo

De acordo com a Figura 1, o conjunto de fontes de dados representado pelas Fontes de Dados (*Big Data*) é composto por bases de dados para atuar na gestão de risco agrícola. Tais bases são carregadas em uma estrutura de *Data Lake*, definida por um repositório que recebe dados brutos de *Big Data* e que também, neste momento inicial, é utilizado para efetuar o tratamento da qualidade dos dados. A partir dessa primeira etapa, com os dados já tratados, faz-se uma seleção dos dados por assunto e sua carga é feita nos repositórios *Data Mart*. Os dados serão carregados no repositório de *DW*, por meio de um modelo de dados multidimensional, projetado para receber os dados para exploração. Com o *DW* alimentado com dados, os algoritmos de mineração de dados, com abordagem em aprendizado de máquinas, podem ser aplicados. De posse do resultado processado pelos algoritmos os dados são submetidos à etapa de filtros, para trabalhar a qualidade dos dados estruturados.

## 3. Resultados e Discussão

O resultado deste trabalho foi concebido a partir da configuração estabelecida pelo modelo para a organização de uma arquitetura estruturada e sua operação com diferentes bases de dados. A Figura 2 apresenta o modelo concebido utilizando o conceito de Diagrama *UML* (*Unified Modeling Language*), uma vez que essa linguagem facilita o entendimento do mesmo, oferecendo clareza e objetividade para o desenvolvimento da documentação de projetos associados à gestão de risco e envolve o uso de objetos, descrição de comportamentos e coesão das fases envolvidas no modelo.

Essas características podem ser notadas a partir da estrutura de armazenamento *Data Lake*, pois tal estrutura trabalha com dados brutos de *Big Data*, oferecidos por sensores de diversas naturezas conectados na WEB. Ao capturar informações online, referentes às verdades de campo, tem-se a possibilidade de alimentar sistemas de apoio à decisão em tempo real, com um mínimo de latência. Após essa coleta dinâmica dos dados aliada o uso agregado do *know-how* de processos de análise, por meio do *DW*, o qual agrega valor ao resultado final.

No contexto apresentado na Figura 2, tem-se bases de dados organizadas a partir do modelo customizado ao problema a ser tratado, que atendem, especificamente, requisitos estabelecidos por usuários para gerir riscos agrícolas.

Por fim, com o uso de algoritmo de Mineração de Dados, baseado na abordagem de Aprendizagem de Máquinas, é possível prever padrões de riscos agrícolas à priori, a partir da avaliação de series temporais e treinamentos com base nas variáveis envolvidas, tais como: imagens, dados climáticos, estado atual das plantas, qualidade de solo e outras variáveis de interesse para o manejo agrícola.

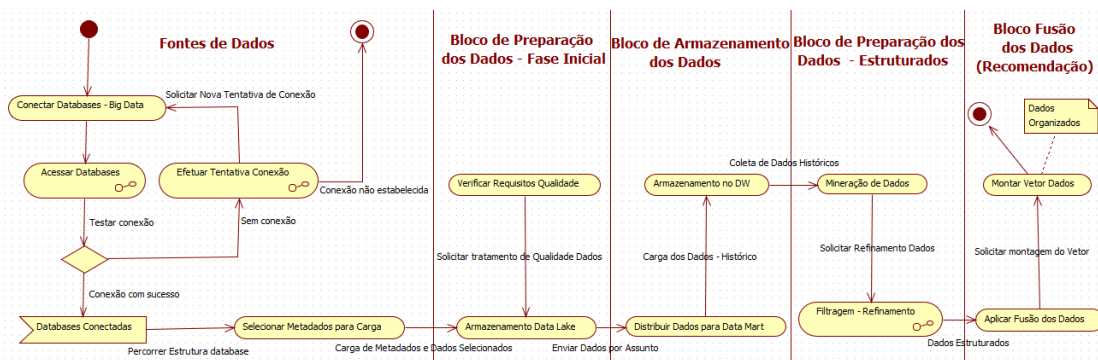


Figura 2. Diagrama UML para o Modelo de Estruturação das Bases de Dados Digitais

Este aspecto traz ao resultado oportunidades de análises inteligentes que podem ser disponibilizadas via WEB, visando agregar valor ao processo de tomada de decisão no ambiente agrícola.

#### 4. Conclusões

Este trabalho apresentou um modelo e sua arquitetura operacional para estruturação de bases de dados digitais para apoio à tomada de decisão, tendo como foco o uso de *Big Data* e arquiteturas planejadas para atuação em ambiente de Nuvem. Foram abordadas também estratégias, tais como: o uso de algoritmos de mineração, baseados na abordagem de aprendizagem de máquina para uso na etapa de preparação de dados, aplicação de filtros baseados em requisitos para uso na etapa de qualidade dos dados estruturados e, como recomendação, o uso da técnica de fusão de dados para auxílio à normalização dos dados e seus formatos. A validação da arquitetura para estruturação de bases de dados digitais utilizou Diagrama de Atividades *UML* como elemento principal, de forma a facilitar o entendimento e a sua implementação.

#### Agradecimentos

Este trabalho recebe apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Processo 17/19350-2, via convênio IBM Brasil e Embrapa, assim como da UFSCar junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação.

#### Referências

- ALEXANDRA MARIA IOANA, F.; VLAD, D.; RAMONA, B. Data integration approaches using ETL. **Database Systems Journal**, n. 3, p. 19-27, 2016.
- ALEKSEEV, A. et al. Efficient data management tools for the heterogeneous big data warehouse. **Physics of Particles and Nuclei Letters**, v. 13, n. 5, p. 689-692, 2016.
- CHEVALIER, M. et al. Implementing multidimensional data warehouses into NoSQL. 2015.
- HARINARAYAN, V.; RAJARAMAN, A.; ULLMAN, J. D. Implementing Data cubes Efficiently. In: ACM SIGMOD INTERNATIONAL CONFERENCE OF MANAGEMENT OF DATA, Montreal, Canada, p. 205 -216, 1996.
- HU, P. The cooperative study between the hadoop big data platform and the traditional data warehouse. **Open Automation and Control Systems Journal**, v. 7, n. 1, p. 1144-1152, 2015.
- JUKIĆ, N. et al. Augmenting Data Warehouses with Big Data. **Information Systems Management**, v. 32, n. 3, 2015.
- KIMBALL, R.; ROSS, M. The data warehouse toolkit: **The definitive guide to dimensional modeling**. John Wiley & Sons, 2013.
- SINGH, H. **Data Warehouse: concepts, technologies, implementations and management**. Saddle River: Prentice Hall PTR, 1998.
- SOLODOVNIKOVA, D.; NIEDRITE, L. An Approach to Handle Big Data Warehouse Evolution, 2018.
- SOSINSKY, B.: **Cloud Computing Bible**, 1st edn. Wiley, New York, 2011.
- WU, H.; WU, H.; SENG, D.; FANG, X.; XU, H. **Application of information fusion technologies for multi-source data**. p. 560-564, 2013.
- ZHOU, Z.-H. Three perspectives of data mining. **Artificial Intelligence Journal**, p.139–146, 2003.

## VARIABILIDADE ESPACIAL DO CRESCIMENTO DO EUCALIPTO E DA TEMPERATURA DE SUPERFÍCIE DE UM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA- PECUÁRIA-FLORESTA

Gustavo R. Nogueira<sup>1</sup>; Isadora Haddad Ruiz<sup>1</sup>; Nicolle Laurentti<sup>2</sup>; Luiz Adriano Maia Cordeiro<sup>3</sup>; José Ricardo Macedo Pezzopane<sup>4</sup>; Alexandre Rossetto Garcia<sup>4</sup>; Teresa Cristina Alves<sup>4</sup>; Alberto C. de Campos Bernardi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> *Gestão e Análise Ambiental - UFSCar, São Carlos, SP*

<sup>2</sup> *Engenharia Agrônômica, UNICEP, São Carlos, SP*

<sup>3</sup> *Embrapa Cerrados, Planaltina, DF*

<sup>4</sup> *Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: gnogueiraufscar@gmail.com*

**Resumo:** O sensoriamento remoto possui diversas ferramentas que auxiliam na compreensão e execução de estudos climáticos, edáficos, ambientais e que podem ser utilizados para o manejo de sistemas agropecuários. Entre as técnicas que possibilitam esse conhecimento está o geoprocessamento de imagens oriundas de sensoriamento remoto. O objetivo deste trabalho foi comparar os dados de temperatura de superfície do solo e da altura de plantas de eucalipto. O estudo foi realizado em uma área 12 ha do sistema de ILPF leite, na Embrapa Pecuária Sudeste em São Carlos-SP. Foram geradas imagens de Termografia de Infravermelho (IRT) obtidas por sensoriamento remoto comparando com medidas interpoladas das alturas das árvores obtidas a campo na primavera. Os dados foram armazenados, tratados e interpolados em ambiente SIG. A altura das árvores variou entre 4,0 a 6,0 m e a termografia de superfície de 15°C a 38°C respectivamente. Nas regiões com maior crescimento das árvores a temperatura da superfície era mais baixa. Os resultados evidenciaram que as técnicas e ferramentas do sensoriamento remoto contribuem para estudos da variabilidade espacial e tomada de decisão no manejo de sistemas agropecuários.

**Palavras-chave:** agricultura de precisão, IDW, sensoriamento remoto, termografia da superfície, sistemas integrados.

### ***SPATIAL VARIABILITY OF EUCALYPTUS GROWTH AND SURFACE TEMPERATURE OF A CROP-LIVESTOCK-FOREST INTEGRATED SYSTEM***

**Abstract:** Remote sensing has several tools that help in the understanding and execution of climatic, soil, environmental studies that can be used for the management of agricultural systems. Among the techniques that enable this knowledge is the geoprocessing of images from remote sensing. This research aims to compare the data of soil surface temperature and height of eucalyptus plants. The study was carried out in a 12-ha area of the crop-livestock-forest integrated dairy system, at Embrapa Pecuária Sudeste in São Carlos-SP, Brazil. Surface Infrared Thermography (IRT) images obtained by remote sensing were generated comparing with interpolated measurements of tree heights achieved in the field in spring. Data were stored, processed and interpolated in GIS environment. Tree height ranged from 4.0 to 6.0 m and surface thermography from 15 ° C to 38 ° C respectively. In regions with higher tree growth the surface temperature was lower. The results showed that remote sensing techniques and tools contribute to studies of spatial variability and decision making in the management of agricultural systems.

**Keywords:** precision agriculture, IDW, remote sensing, surface thermography, integrated systems.

## 1. Introdução

Os estudos climáticos, edáficos e botânicos aplicados ao manejo de sistemas de produção agropecuário proporcionam ganhos ambientais e econômicos, sendo eles relacionados à redução dos impactos ambientais, economia de insumos, aumento da produtividade e qualidade dos produtos. Dentre as técnicas para a compreensão destes cenários, o sensoriamento remoto destaca-se por fornecer ferramentas capazes de realizar o geoprocessamento de imagens oriundas de veículos aéreos não tripulado ou tripulado, satélites e sensores proximais.

Segundo Filippini-Alba (2014), o sensoriamento remoto é uma ferramenta do geoprocessamento que possibilita o estudo de alvos terrestres (objetos, fenômenos, áreas) através da interação entre a radiação eletromagnética com a superfície. Tal tecnologia viabiliza diversas análises ambientais, sendo alguma delas aplicadas a agricultura de precisão. A termografia de superfície, os índices de vegetação e a interpolação destacam-se como ferramentas metodológicas essenciais para estes estudos. A termografia de superfície detecta o fluxo radiante de objeto emitido em comprimentos de onda entre 3-14  $\mu\text{m}$ , utilizando detectores de radiação infra-vermelha acoplados a estruturas orbitais ou aeronaves. Os índices de vegetação possibilitam estimar a produtividade de biomassa vegetal e os efeitos dos estresses bióticos e abióticos sobre um sistema de produção agrícola. A técnica de interpolação *Inverse Distance Weighting* (IDW), como destacado por Tomczak (1998) e Henley (2012), é a mais utilizada pela fácil aplicação, a qual é baseada na distância ponderada de pontos amostrais.

Diante das considerações, o presente trabalho teve como objetivo comparar os dados de temperatura de superfície do solo e da altura de plantas de eucalipto.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Localização da área de estudo

O estudo foi realizado em área experimental (Figura 1) da Embrapa Pecuária Sudeste em São Carlos, Brasil (21°57'S, 47°51'W, 860 m alt) no sistema de integração lavoura-pecuária-floresta para produção de leite (ILPF leite). Esta área totaliza 12 ha composta por pastagem de capim Paiaguás (*Urochloa brizantha*), implantado em sistema de rotação com milho (*Zea mays*) e é arborizado com eucalipto Citrodora (*Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson) com o espaçamento de 25 x 2m em 2017. O sistema é composto por 29 linhas de árvores e coleta das medidas de altura ocorreu em 20 plantas das linhas indicadas na Figura 1.

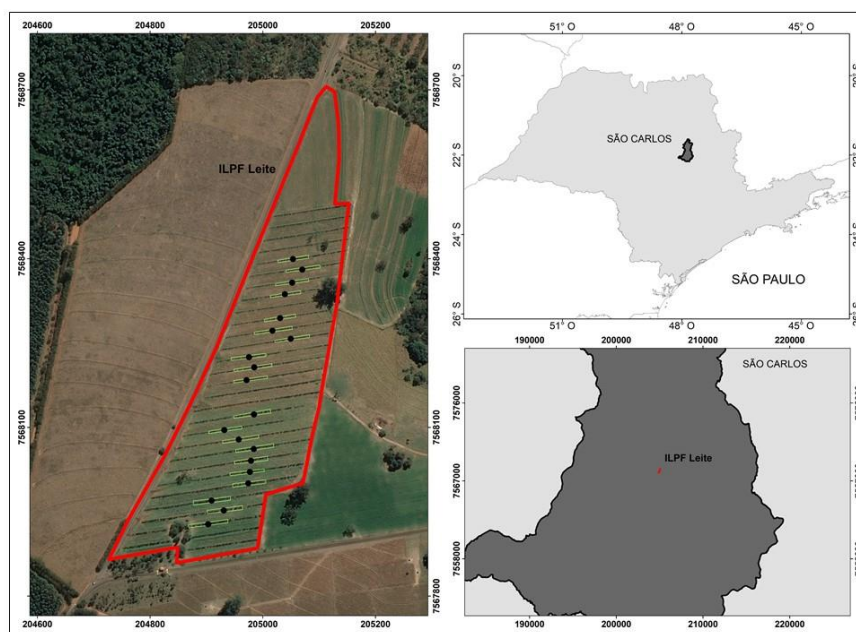


Figura 1. Localização da área experimental do ILPF leite, São Carlos – SP e o esquema de amostragem de altura de plantas.

## 2.2. Altura das árvores

Foram avaliadas 20 árvores de cada linha indicada na Figura 1, e as alturas das árvores selecionadas foi medida com o hipsômetro Haglof. O valor médio das alturas com a respectiva coordenada geográfica central foi armazenado em sistema de informação geográfica (SIG).

## 2.3. Termografia de superfície

Foram utilizados dados georreferenciados de Termografia de Infravermelho (IRT) de superfície coletados pela empresa Airscout®, por meio de sobrevoos com veículo aéreo a altura aproximada de 2.000 pés entre as 11h e 14h30. As datas das coletas na estação da primavera de 2018 foram: 12/out e 09/dez .

## 2.4. Interpolação com IDW

Os dados da IRT e da altura de plantas, armazenados e organizados em SIG, foram interpolados utilizando o software ArcGIS 10.5, por meio da técnica do vizinho ponderado – IDW (TOMCZAK et al., 1998) para obter um arranjo espacial contínuo das informações no local de estudo (AKKALA et al., 2010). A partir dos mapas de IRT em cada data amostrada, criou-se uma malha de pontos padronizada para amostragem para cada área, de acordo com o seu tamanho, o qual foi utilizado como referencial de amostragem para extrair informações da mesma localidade em todas as imagens e então calcular-se a média das temperaturas da estação.

## 3. Resultados e Discussão

A altura das plantas de eucalipto Citroedora apresentou, no período da primavera, um gradiente de desenvolvimento da planta em diferentes regiões do sistema ILPF leite. Os valores variaram de 4,0 m a 6,0 m. Na porção sul da área experimental, o crescimento médio é maior em relação à porção norte, com as menores médias de crescimento (Figura 2).

A temperatura média do sistema ILPF e IPF variou entre 15°C a 38°C com predominância da temperatura intermediária de 26°C. Ao norte do mapa é possível identificar uma região que representa o aumento significativo da temperatura, principalmente nas áreas onde se concentram as linhas de eucalipto com menor crescimento (Figura 2). Ao comparar as informações, é possível verificar que o aumento da temperatura foi influenciado pelo menor crescimento das árvores.

As temperaturas mais amenas no microclima com maior crescimento de árvores, e conseqüentemente mais sombra, podem resultar em ganhos referentes ao bem-estar animal, com menor exposição ao sol, como já havia sido demonstrado por Pezzopane et al. (2019). A partir destes resultados será importante aprofundar os estudos para avaliação das características químicas e físicas do solo, para a compreensão das diferenças de crescimento de plantas observada em dentro do sistema.

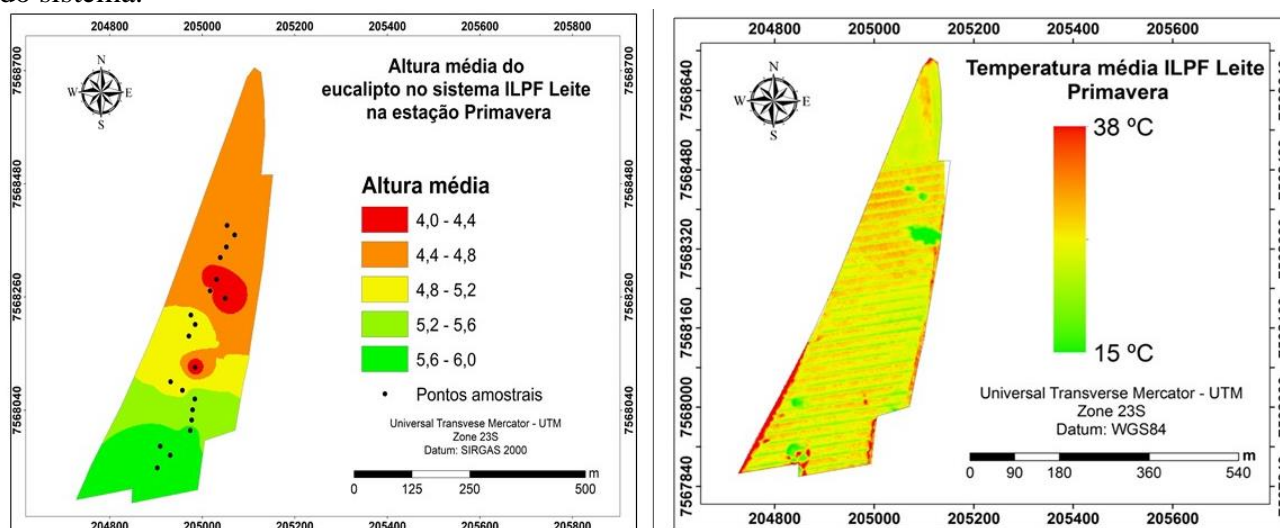


Figura 2. Comparação entre a altura média do eucalipto com a temperatura média do sistema ILPF.

A diferenciação da temperatura de superfície das linhas e entre linhas foi viabilizada pelo fato de ser uma amostragem feita com auxílio de imagens com alta resolução e em escala pequena, a qual permitiu um grande detalhamento, viabilizando as análises da relação entre temperatura e alturas das árvores. Apesar das medidas das árvores serem feitas por método direto, foi possível relacionar as imagens.

#### 4. Conclusões

A altura das árvores variou entre 4,0 a 6,0 m e a termografia de superfície de 15°C a 38°C respectivamente. Nas regiões com maior crescimento das árvores a temperatura da superfície era mais baixa. Os resultados evidenciaram que as técnicas e ferramentas do sensoriamento remoto contribuem para estudos da variabilidade espacial e tomada de decisão no manejo de sistemas agropecuários.

#### Agradecimentos

À empresa AirScout® pelas imagens aéreas, Associação da Rede ILPF pelo suporte financeiro para condução de trabalho e CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

#### Referências

- AKKALA, A.; DEVABHAKTUNI, V.; KUMAR, A. Interpolation techniques and associated software for environmental data. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, Hoboken, v.29, n.2, p. 134-141, 2010.
- BALBINO, L. C.; BARCELLOS, A. de O.; STONE, L. F. (Ed.). **Marco referencial: integração lavoura-pecuária-floresta**. Brasília, DF: Embrapa, 2011. 130 p.
- FILIPPINI ALBA, J. M. Modelagem SIG em agricultura de precisão: conceitos, revisão e aplicações. In: BERNARDI, A. C. C.; NAIME, J. M.; RESENDE, A. V.; BASSOI, L. H.; INAMASU, R. Y. (Ed.). **Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. p. 84-95.
- HENLEY, S. Nonparametric geostatistics. Springer Science & Business Media, 2012. 145p
- TOMCZAK, M. Spatial interpolation and its uncertainty using automated anisotropic inverse distance weighting (IDW)-cross-validation/jackknife approach. **Journal of Geographic Information and Decision Analysis**, v. 2, n. 2, p. 18-30, 1998.
- PEZZOPANE, J. R. M.; NICODEMO, M. L. F.; BOSI, C.; GARCIA, A. R.; LULU, J. Animal thermal comfort indexes in silvopastoral systems with different tree arrangements. **Journal of Thermal Biology**, v. 79, p. 103-111, 2019.

**PROGRAMA DE APLICAÇÃO TECNOLÓGICA PARA AGRICULTURA - CIMOTECH**R. L. Panini<sup>1\*</sup><sup>1</sup> *Cimotech, Rua Bernardino de Campos, 116, 14900-000, Itápolis, SP*<sup>\*</sup> *Autor correspondente, e-mail: rafael.panini@cimoagro.com.br*

**Resumo:** Este trabalho destina-se a inserção tecnológica para aplicação em melhores práticas na agricultura, apresentando soluções localizadas e maior desempenho na produção agrícola de diversas culturas no Estado de São Paulo. As vertentes de operação do sistema são: aplicação tecnológica, agricultura digital, monitoramento de lavoura e tratamento industrial de sementes. Através da Cimotech são disponibilizados atendimentos personalizados com a perspectiva de inteligência na agricultura. No período de julho a setembro de 2019 foram inspecionados 30 equipamentos pulverizadores, resultando melhor desempenho com 92,3% e o de desempenho inferior com 46,15%, em relação a ISO 16122(2018). Foram realizados 21 treinamentos de aplicação tecnológica com envolvimento de 184 profissionais rurais. Em agricultura digital, 200 produtores rurais de 3.274 talhões foram atendidos, totalizando 108.403 hectares. Para o sistema de monitoramento de lavoura foram realizadas amostragens com 17 produtores, totalizando 1.635 hectares no Estado de São Paulo. O tratamento industrial de sementes encontra-se na fase de comercialização com sementes de soja Intacta RR2 PRO. Observa-se por fim maior aderência a tecnologia em cultivos anuais.

**Palavras-chave:** tecnologia, instrumentação, precisão, aplicação, agricultura.

**TECHNOLOGICAL APPLICATION PROGRAM FOR AGRICULTURE – CIMOTECH****Abstract:**

This work is intended for the technological insertion for application in best practices in agriculture, presenting localized solutions and higher performance in the agricultural production of several crops in the State of São Paulo. The operating aspects of the system are: technological application, digital agriculture, crop monitoring and industrial seed treatment. Cimotech provides personalized services with the perspective of intelligence in agriculture. From July to September 2019, 30 sprayer equipment were inspected, resulting in better performance with 92.3% and lower performance with 46.15%, compared to ISO 16122 (2018). Twenty-one technological application training sessions were conducted involving 184 rural professionals. In digital agriculture, 200 farmers from 3,274 plots were served, totaling 108,403 hectares. For the crop monitoring system, samples were collected from 17 producers, totaling 1,635 hectares in the state of São Paulo. Industrial seed treatment is in the commercialization phase with Intacta RR2 PRO soybean seeds. Finally there is greater adherence to technology in annual crops.

**Keywords:** technology, instrumentation, precision, application, agriculture.

**1. Introdução**

Nos últimos tempos, a crescente demanda por incremento de produção na agropecuária tem se convertido em novas ferramentas tecnológicas para inovação das práticas e melhor gestão das áreas produtivas. No entanto, é necessário que as pessoas envolvidas nos processos estejam em constante capacitação e qualificação para preparação de suas habilidades no uso da tecnologia, o que nem sempre é trivial. O desafio proposto está relacionado em digerir com agilidade novas formas de trabalho e transformar estas informações em uma linguagem simplificada, de fácil acesso para os profissionais do campo. Do ponto de vista de tecnologia de aplicação, apesar dos grandes esforços dos programas de treinamento e extensão no país, ainda há necessidade de múltiplas ações



para melhoria da qualidade da aplicação dos produtos fitossanitários (Antuniassi et al., 2017).

Para Ramos (2019), os treinamentos promovem inovação e aumento da segurança das aplicações de defensivos agrícolas no Brasil. Segundo Molim (2014), a utilização de novas tecnologias no campo está cada vez mais presente com estudos nas aplicações específicas de sensores, na utilização de georreferenciamento com mapas de produtividade.

## 2. Materiais e Métodos

O programa de aplicação tecnológica é destinado a agricultores, consultores e demais profissionais envolvidos com a produção agrícola no Brasil. O programa está direcionado para as culturas de citrus, cana-de-açúcar, café, soja, amendoim, milho, trigo, sorgo, feijão, melancia, manga, goiaba, tomate, batata e uva. Para atender estas diferentes áreas de produção foram implantadas equipes de trabalho para as seguintes demandas:

- **Aplicação Tecnológica:** agricultura 4.0, melhores práticas no campo, consultoria, treinamento de equipes, certificação de equipamentos pulverizadores e palestras.
- **Agricultura Digital:** imagens de satélite, amostragem, mapeamento, gestão de fertilidade e compactação, climatologia, gerenciamento de frota, processos e produção, com diagnóstico de resultados.
- **Monitoramento de Lavoura:** gestão de decisões no cultivo agrícola, verificação de falha de plantio, quantificação de plantas infestantes, pragas e doenças.
- **Tratamento de Sementes Industrial:** semente pronta, classificação e alta qualidade de germinação no plantio.

### 2.1. Aplicação tecnológica

Este projeto é destinado ao treinamento de operadores de pulverizadores terrestres na agricultura, como forma de extensão tecnológica para poder capacitar e qualificar os profissionais do campo e também realizar a verificação dos equipamentos utilizados na aplicação de produtos fitossanitários. Para tanto foi desenvolvido o laboratório móvel apresentado na figura 1, e por meio de um sistema itinerante percorrer os diferentes destinos de culturas agrícolas pelo interior São Paulo. O equipamento é de grande valia por permitir a demonstração de condições de trabalho e comparações de condições meteorológicas, considerando as problemáticas sobre deriva e melhores técnicas de aplicação de produtos fitossanitários. Com isto pode-se também trabalhar a discussão dos diferentes tipos de equipamentos desenvolvidos disponíveis no mercado e outras ferramentas de inovação tecnológica.

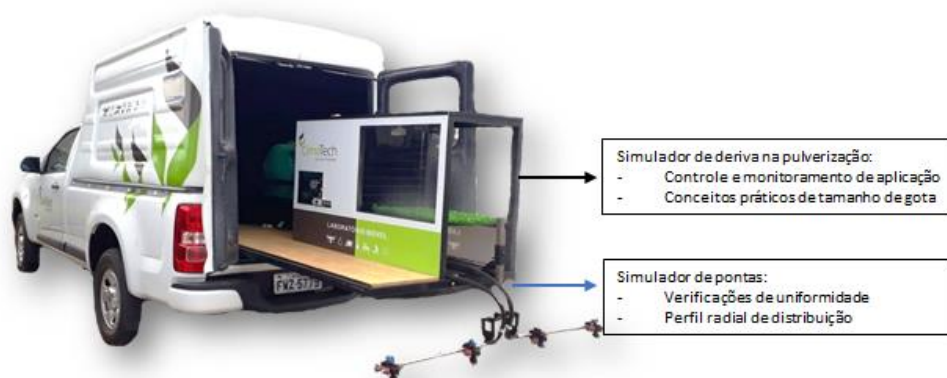


Figura 1. Laboratório móvel para os treinamentos de melhores práticas na utilização de defensivos agrícolas. Fonte: Cimotech.

### 2.2. Agricultura digital

O desenvolvimento da agricultura de precisão trouxe alternativas inovadoras para observação dos fatores de controle operacional e utilização racional de insumos agrícolas. Associando as técnicas de imagens de satélite, amostragem de solos, mapeamento de fertilidade, de nutrição de plantas, verificação de compactação, dados climatológicos e outros parâmetros, torna-se possível ao produtor agrícola realizar a gestão de maneira mais eficiente, assertiva e interpretando de maneira simplificada os processos sob o aspecto agrônômico e produtivo (mecanização e uso de equipamentos). O objetivo é de manter acompanhamento dos produtores e colaboradores para que haja maior aderência e facilidade na utilização dos sistemas digitais. Na figura 2 e 3 podemos observar exemplos de ferramentas utilizando softwares desenvolvidos para definição e coleta de amostras e em outros casos utilizando imagens de satélite para verificação de produção e massa vegetal por espectro de refletância.



Figura 2. Representação de possibilidades de trabalho com o uso do sistema de agricultura digital. Fonte: Climate Fieldview.



Figura 3. Sistema de amostragem de solo em diferentes profundidades. Fonte: Cimotech.

### 2.3. Monitoramento de lavoura

Atualmente processos agrícolas mecanizados podem compartilhar dados de trabalho com sistemas de gestão por meio de controladores e outras interfaces homem-máquina. O objetivo deste projeto está relacionado com a gerência de decisões para o cultivo agrícola e questões inerentes ao processo como: verificação de falhas de plantio, quantificação de plantas infestantes e monitoramento de pragas e doenças. Para isto, softwares que utilizam imagens aéreas e imagens de satélite estão sendo utilizados para garantir a confiabilidade e velocidade no resultado, sobre a condição das lavouras. Sistemas de algoritmos programados fazem o processo de quantificação de pragas em um tempo muito superior, o que permite que o controle químico, biológico ou mecânico seja mais eficiente e no momento exato.

### 2.4. Tratamento industrial de sementes

Este projeto é destinado a produtores rurais da cultura da soja, que permite ao agricultor o acesso a semente pronta, com tratamento industrial que proporciona maior homogeneidade, com classificação e alta qualidade de germinação no plantio.

## 3. Resultados e Discussão

Com o sistema de trabalho Cimotech os produtores atendidos estão desenvolvendo habilidades na operação de sistemas digitais na agricultura, com maior percepção dos processos e procedimentos. Considerando que a cada dia mais a tecnologia revoluciona as formas de trabalho e permite a rastreabilidade agrícola. Por isso, tonar-se imprescindível a preparação do capital humano para atualizações frequentes sobre o uso de tecnologia na era da agricultura digital.

### 3.1. Aplicação tecnológica

O desenvolvimento do laboratório móvel permitiu que os treinamentos fossem realizados em propriedades rurais, com demonstrações práticas, capacitação e qualificação de profissionais da agricultura. Estas capacitações podem ter diferentes cargas horárias, dependendo da necessidade do produtor. Outro sistema desenvolvido trata da inspeção de equipamentos de pulverização agrícola, baseado na NBR ISO 16122 (2018), onde os colaboradores da Cimotech fazem a verificação de conformidade para aplicação de produtos defensivos (Figura 4). Isto permite maior segurança, o uso racional e alta eficiência nas pulverizações, destacando técnicas de redução da deriva na aplicação, e melhores práticas para agricultura.



Figura 4. Capacitação de profissionais do campo, registro de inspeção por qr-code.

Entre os meses de julho e setembro de 2019 foram realizados 21 treinamentos, com a participação de 184 pessoas, entre operadores, proprietários rurais e demais profissionais envolvidos. Durante este desenvolvimento foram realizadas 30 inspeções de equipamentos de pulverização com os devidos apontamentos de manutenção e aplicação adequada, com o uso de registro por qr-code, preconizando melhores práticas com o uso de defensivos. Os principais problemas detectados estão relacionados com vazamentos, uso de manômetros, desgaste de pontas de pulverização e por consequência, erro na dosagem. Nestas inspeções de pulverização em conformidade com a NBR ISO 16122, o equipamento de maior tempo de fabricação foi 2004 e o mais recente, 2019. Nestes 30 equipamentos o melhor resultado de conformidade foi 92,31%, enquanto que o equipamento de resultado inferior foi de 46,15%. Este percentual de aderência foi estimado por meio de um formulário de 40 itens de inspeção em conformidade com a ISO 16122-2018.

### 3.2 Agricultura Digital

A partir da capacitação, qualificação e acompanhamento de clientes com as utilizações da plataforma foi possível estimar as capacidades agrícolas de diferentes propriedades, por sistemas de gestão digital. A familiarização com as ferramentas por meio de tablet ou smartphone permitiu maior entendimento de questões de dificuldade de verificação, de acordo com os produtores participantes. Como é o caso de estimativa de produção de massa foliar pelas imagens de satélite e posterior interpretação em áreas com variações significativas, para identificar qual fator limitante. Até o momento foram atendidos 200 produtores rurais, sendo 3.274 talhões, totalizando 108.403 hectares monitorados pela equipe Cimotech. Observou-se maior interesse de uso desta ferramenta

em culturas anuais.

### **3.3 Monitoramento de lavoura**

Os métodos são extremamente eficazes e também podem colaborar para a estruturação do histórico de ocupação de solo, o que poderá prever no futuro quais serão os maiores desafios de controle na lavoura através de sistemas economicamente viáveis e que agregam benefícios reais na utilização de tecnologia. Até o momento, 1.635 hectares monitorados, divididos em 17 produtores/fazendas do Estado de São Paulo. Neste modelo de trabalho notou-se maior interesse em culturas anuais em comparação com culturas perenes.

### **3.4. Tratamento de sementes industrial**

O TSI engloba parte fundamental para os produtores voltados ao plantio de soja, com sementes de qualidade superior e pronta para o uso. Deste modo o tratamento de sementes industrial agrega os benefícios da tecnologia com sementes que proporcionam maior homogeneidade, com classificação e alta qualidade de germinação no plantio. O tratamento industrial de sementes envolveu as seguintes etapas: agitação dos produtos, aplicação, mistura, ensaque e controle de qualidade. Esta semente pronta, permite que o agricultor fique isento de preocupações e atividades relacionadas com a prática e assim possa se ocupar com as questões de maior importância em relação a janelas de plantio, regulagens de equipamentos que garantam a “plantabilidade” e stand uniforme e, por consequência, incremento de produção na colheita. O tratamento industrial de sementes encontra-se na fase de comercialização com sementes de soja Intacta RR2 PRO.

## **4. Conclusões**

Observou-se alta demanda por tecnologia em culturas anuais, uma vez que estas tecnologias permitem sustentabilidade social e econômica para os produtores, o que representou a maior parte dos esforços da equipe. Nas culturas perenes existe um grande mercado a ser explorado pelos sistemas digitais e outras tecnologias associadas.

## **Agradecimentos**

A toda equipe Cimoagro que acredita na transformação, capacitação e qualificação de seus parceiros e colaboradores.

## **Referências**

- ABNT-Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 16122: Máquinas agrícolas e florestais – Inspeção de pulverizadores em uso. Partes: 1, 2 e 3. Primeira Edição 2018. 45p.
- Antuniassi, U. R. Problema sem fim. Revista Cultivar Máquinas, Ano XV - N 176. 2017.
- Ramos, H. H. Treinamentos promovem aumento da segurança das aplicações de defensivos agrícolas no Brasil. Revista Cultivar. Disponível em: <https://www.grupocultivar.com.br/noticias/unidade-de-referencia-mira-trabalhador-rural-para-aumentar-seguranca-das-aplicacoes-de-defensivos-agricolas-no-brasil>. Acesso em: 13-08-19.
- Molin, J. P. Tendências da agricultura de precisão no Brasil. Congresso Brasileiro de Agricultura de Precisão. Disponível em: [http://www.agriculturadeprecisao.org.br/upimg/publicacoes/pub\\_tendencias-da-agricultura-de-precisao-no-brasil-27-08-2014.pdf](http://www.agriculturadeprecisao.org.br/upimg/publicacoes/pub_tendencias-da-agricultura-de-precisao-no-brasil-27-08-2014.pdf). Acesso em 15-08-19.

**ORGANIZAÇÃO DE UMA ESTRUTURA DE PROCESSAMENTO PARALELO  
BASEADO EM APACHE SPARK PARA GERENCIAMENTO DE RISCO AGRÍCOLA**M. F. L. Pereira<sup>1,2,\*</sup>, G. M. Alves<sup>1,3,4</sup>, J. M. G. Beraldo<sup>1,5</sup>, P. E. Cruvinel<sup>1,3</sup><sup>1</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP<sup>2</sup> Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando C. da Costa, 2367, 78060-900, Cuiabá, MT<sup>3</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luís km 235, 13565-905, São Carlos, SP<sup>4</sup> Instituto Federal de São Paulo, Av. Marginal, 585, 13871-298, São João da Boa Vista, SP<sup>5</sup> Instituto Federal de São Paulo, Rua Stéfano D'avassi, 625, 15991-502 – Matão, SP

\* Autor correspondente, e-mail: mauricio@ic.ufmt.br

**Resumo:** A grande disponibilidade de dados produzidos atualmente por estações agrometeorológicas, satélites, VANTs, máquinas agrícolas, dentre outros equipamentos possibilita a exploração e organização de técnicas computacionais para a obtenção de informação útil ao produtor, especialmente no que tange aos riscos agrícolas. Como o volume de dados gerado é, em geral imenso, isso torna inviável a execução de tais algoritmos em máquinas convencionais, tornando cada vez mais necessário o uso de arquiteturas paralelas. O objetivo deste trabalho é apresentar a organização de um modelo paralelo baseado no *framework* Apache Spark para gerenciamento de riscos agrícolas, abordando inicialmente os fatores de risco relacionados à indicadores físicos e químicos da qualidade do solo. Para isso, apresenta-se um algoritmo paralelo que, a partir da entrada de imagens tomográficas de solos agrícolas distribui essas imagens e as tarefas de reconhecimento de poros, de densidade e de compactação dos solos entre diversos nós. A modelagem do algoritmo paralelo proposto possibilitou novos caminhos para ganhos de desempenho e redução do tempo necessário para geração de mapas de riscos baseados na qualidade de solos agrícolas.

**Palavras-chave:** processamento paralelo, apache spark, imagem tomográfica, qualidade de solo

**ORGANIZATION OF AN APACHE SPARK-BASED PARALLEL PROCESSING  
STRUCTURE FOR AGRICULTURAL RISK MANAGEMENT**

**Abstract:** Actually, a large volume of data is being produced by agrometeorological stations, satellites, UAVs, agricultural machines, among other equipment's, and this demands the organization of new computational techniques to obtain useful information for farmers from such data, especially regarding to agricultural risks. Therefore, the data volume is immense, and it is almost impossible to execute them based on algorithm operating in conventional architectures. This paper presents the organization of a parallel model based on the Apache Spark framework for agricultural risk management, initially addressing risk factors related to soil quality. Based in such concept a parallel algorithm is proposed to distribute tomographic images of soil to several nodes, as well as, to ask them for not only pore recognition, but also for soil density and soil compaction measurements from those images. Besides, the developed parallel algorithm allows to obtain a better performance gains and reduction of the time required to generate the maps of risk for the agricultural soil quality.

**Keywords:** parallel processing, apache spark, tomographic images, soil quality.

**1. Introdução**

O agronegócio é um importante pilar da economia brasileira e da economia mundial e nele, como tem ocorrido em diversas áreas, a transformação digital recentemente tem alterado a forma de execução de alguns processos agrícolas, com a inclusão cada vez maior da automação, no que vem sendo chamada há alguns anos de agricultura de precisão e de decisão. Nesse recente cenário, o uso

de máquinas inteligentes guiadas por GPS para plantar, cultivar e colher com precisão está crescendo no país, trazendo com isso maior economia de insumos, ganhos de produtividade e sustentabilidade. Desta forma, essas máquinas atuam como uma mola propulsora e integradora dentro e fora da cadeia de produção. Além das novas tecnologias embarcadas em máquinas agrícolas utilizadas em campo, existe a necessidade de se explorar técnicas que permitam extrair informação útil de grandes volumes de dados gerado por esses equipamentos. Nesse contexto, em especial, é importante desenvolver algoritmos capazes de fazer uso desses dados através de ferramentas computacionais de apoio a decisão, que visem reduzir riscos e conseqüentemente os prejuízos para o agricultor. Um dos fatores que influencia o risco agrícola é a qualidade do solo (QS), dado que ela influencia os índices de produtividade das culturas agrícolas. De forma geral, a Figura 1 apresenta uma adaptação da estrutura para modelos de riscos agrícolas proposto por Cruvinel *et al.* (2017), no qual o “Mapeamento da qualidade do solo” é uma das componentes no cálculo dos riscos agrícolas. Os algoritmos utilizados nessa componente foram modelados nesse trabalho.

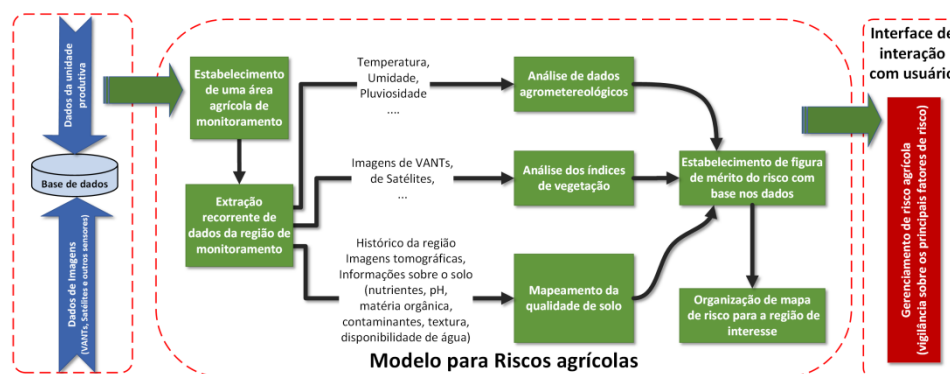


Figura 1. Estrutura para gerenciamento de riscos agrícolas, baseado no uso de geotecnologias e sistemas embarcados de suporte à decisão [Fonte: (CRUVINEL et al., 2017)]

Esse trabalho propõe o desenvolvimento de ferramentas digitais avançadas de apoio ao gerenciamento de riscos agrícolas.

## 2. Materiais e Métodos

Dado ao grande volume de dados e o custo computacional dos algoritmos, os mesmos serão implementados com uso de técnicas de processamento distribuído com uso do modelo MapReduce (HASHIM et al., 2016), combinados ao uso de infraestrutura de alto desempenho, em *clusters* computacionais dedicados ou serviços em nuvem da *Amazon Web Services* (AWS). No desenvolvimento, a programação será baseada no framework para processamento Apache Spark (ZAHARIA et al., 2016) com uso da linguagem Scala e Python para implementação dos modelos. Inicialmente utilizaram-se imagens tomográficas de solos, as quais permitem inferir medidas de porosidade, compactação e densidade do solo, que são importantes para mapeamento da qualidade de solo (ANDREWS; KARLEN; CAMBARDELLA, 2004; COUNCIL, 1993; SNAKIN et al., 1996; SUMNER, 1999).

### 2.1. MapReduce e Apache Spark

Na indústria e na pesquisa científica, por conta da recente facilidade em se gerar e armazenar dados, os volumes destes tem ultrapassado a capacidade de processamento de dados de um único computador, havendo a necessidade de se utilizar arquiteturas computacionais escaláveis e compostas de múltiplos nós processadores (ZAHARIA et al., 2016). O resultado dessa mudança de paradigma tem sido os novos modelos de programação direcionados a particionar a carga de trabalho em diversos processadores (DEAN; GHEMAWAT, 2008). Os primeiros modelos de programação paralela, como o *Message-Passing Interface* (MPI), por serem mais complexos, exigiam dos usuários maior cuidado e tratamento de problemas, tais como sincronização entre os

processos, recuperação dos dados em caso de perda, dentre outros. Já os modelos mais recentes como o *MapReduce*, o qual possui uma forma de implementação de algoritmos associada ao modelo, permite lidar com grandes volumes de dados através de algoritmos paralelos baseados nas funções *map* e *reduce* e no sistema de execução subjacente, o qual toma todos os cuidados para paralelização das tarefas através dos cluster, que em geral possui uma grande quantidade de núcleos. Também ficam sob responsabilidade do sistema de execução, a manipulação de falhas em máquinas e a organização da intercomunicação entre os nós do cluster, de forma a fazer um uso otimizado da rede e dos discos (DEAN; GHEMAWAT, 2008; HASHEM et al., 2016).

Ainda que o *MapReduce* diminuísse bastante a complexidade do desenvolvimento de algoritmos paralelos, em 2009 foi iniciado na Universidade de Berkeley o projeto Apache Spark. Tal projeto estabeleceu como principal objetivo a construção de um ambiente unificado para processamento distribuído de dados, cujo modelo de programação viesse a ser semelhante ao modelo *MapReduce*. Entretanto, considerando a importante abstração de dados denominada *Resilient Distributed Data* (RDD). Essa abstração foi considerada como sendo a mais importante, contribuição, uma vez que permite que objetos sejam tolerantes a falhas e particionados através do cluster computacional. Os RDDs podem ser manipulados em paralelo, o que permite o ganho de desempenho nas aplicações. Usuários podem criar um RDD pela aplicação de transformações, sendo que as mais conhecidas são os filtros (*filters*), mapeamentos (*map*) e agrupamentos (*group by*). O Spark torna possível trabalhar com uma maior variedade de tipos de carga de trabalho computacional, que antes de seu desenvolvimento necessitava de diferentes motores de processamento para tratar situações em que se necessitava trabalhar com SQL, ou com *streaming*, ou com aprendizagem de máquina e processamento de grafos. No Spark todas essas situações mencionadas estão embutidas no núcleo de seu motor. Os principais benefícios oferecidos pelo Spark são: (1) Aplicações mais facilmente desenvolvidas através da API unificada oferecida no *framework*; (2) Maior eficiência nas tarefas que demandem processamento combinado, ou seja, um sistema cujo primeiro módulo prepare informações a partir da base de dados e as armazene para um outro motor ou sistema processar essas informações. No Spark todo esse processo pode ser feito de forma integrada, sobre os mesmos dados e muitas vezes em memória. Mais informações a respeito desse *framework* podem ser obtidas em (SPARK, 2019).

## 2.2. *Qualidade do solo (QS)*

Os efeitos diferenciados nos atributos do solo, devido ao tipo de preparo, característico de cada sistema de cultivo, são dependentes do trânsito de máquinas, do tipo de equipamento utilizado, do manejo dos resíduos, das condições de umidade do solo no momento do preparo. A relação entre o manejo e a qualidade do solo pode ser avaliada pelo comportamento de indicadores da qualidade do solo que podem ser classificados, de um modo geral, em quatro grupos; visuais, físicos, químicos e biológicos. Embora esta divisão em grupos seja usual, é importante salientar que estes atributos e processos, em sua maioria, são inter-relacionados. Os indicadores visuais podem ser obtidos a partir da interpretação de fotografias obtidas com aeronaves tripuladas ou drones, ou ainda com imagens de satélites, ou através de observações diretas (verdade de campo), como a exposição do subsolo, mudança de cor do solo, escorrimento superficial, resposta da planta, espécies de plantas daninhas predominantes, entre outras.

## 2.3. *Organização do modelo paralelo para avaliação de risco na qualidade do solo*

O modelo de integração dos riscos é baseado na metodologia proposta por Cruvinel e colaboradores (CRUVINEL et al., 2011), onde o risco integrado é fruto da intersecção das probabilidades sobre as faixas de valores das variáveis pré-selecionadas.

## 3. Resultados e Discussão

A partir da necessidade de qualificação do solo como um dos elementos para mapeamento dos riscos agrícolas, se estabeleceu um modelo paralelo que utiliza os indicadores físicos, químicos e

biológicos do solo na região de interesse, conforme descrito na Eq. 1. Conforme apresentado na Eq. 1 o resultado da probabilidade da qualidade do solo passou a ser função da intersecção das probabilidades, ou seja, porosidade, compactação, densidade, nutrientes (como por exemplo nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K)), matéria orgânica, pH, contaminantes (metais pesados, como por exemplo o Chumbo (Pb), o Cobre (Cu) e o Manganês (Mg)), textura (argila, silte e areia) e disponibilidade de água. A textura ou granulometria indica as frações do solo. A argila é a que possui maior superfície específica e é de natureza coloidal com alta retenção de cátions e adsorção de fósforo. A fração argila representa a maior parte da fase sólida do solo e é constituída de uma gama variada de minerais que apresentam cargas elétricas negativas responsáveis pela capacidade de troca de cátions (CTC).

$$P(QS) = P(\text{porosidade}) \cap P(\text{compactação}) \cap P(\text{densidade}) \cap P(\text{nutrientes}) \cap P(\text{matéria orgânica}) \cap P(\text{pH}) \cap P(\text{Contaminantes}) \cap P(\text{textura}) \cap P(\text{disponibilidade de água}) \quad (1)$$

Adicionalmente, a partir de imagens tomográficas do solo obtidas em alta resolução, pode-se extrair informações a respeito da porosidade, densidade e compactação do solo de forma automática, acelerando-se tanto o reconhecimento dessas características, quando o cálculo da figura de mérito para cada área no mapa da região de interesse. Dessa forma, organizou-se a modelagem do algoritmo, mostrada na Figura . Nesse contexto foi utilizado o ambiente Apache Spark, para realizar o reconhecimento dessas características a partir de imagens reconstruídas também em ambiente paralelo. Observa-se que os módulos que podem ser paralelizados são mostrados com diversas caixas, ilustrando que o cálculo é realizado de forma distribuída.

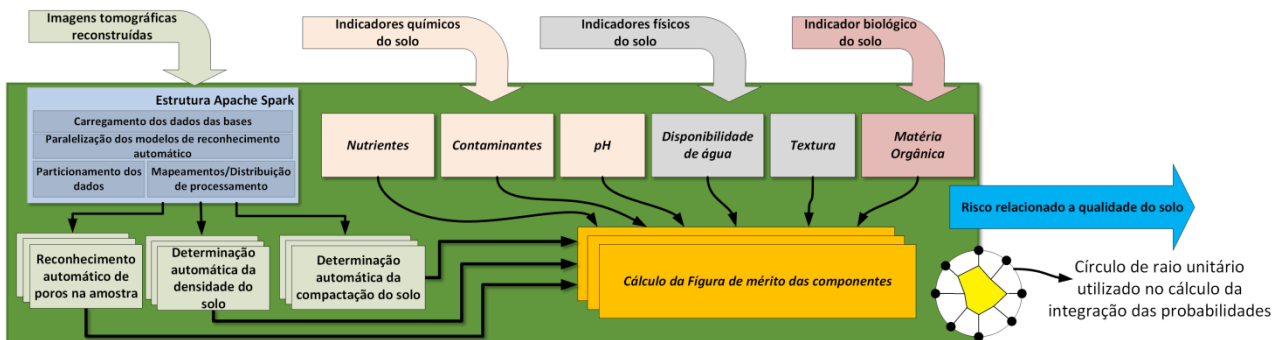


Figura 2. Organização do algoritmo paralelo para determinação do risco relacionado a qualidade do solo, através do reconhecimento automático da porosidade, densidade e compactação através de imagens tomográficas.

Dessa forma, é possível usar os dados de tomografia para avaliação da porosidade, densidade e compactação do solo. Assim, tal como apresentado na Figura , tem-se na entrada do algoritmo paralelo imagens tomográficas de solo reconstruídas, que serão lidas no ambiente Apache Spark, assim como os demais dados lidos em laboratório e distribuídas ao longo dos nós na forma de RDD. Aqui, admite-se que se utilizará um cluster com ao menos 4 nós de processadores *multicore*. A partição dos dados se dá de forma que cada nó recebe uma imagem, da qual irá extrair os atributos físicos mencionados. Coordenados pelo algoritmo paralelo, cada nó retorna os atributos físicos e a identificação da imagem analisada. Essas informações fomentam juntamente com os indicadores da qualidade do solo, quais deverão ser inseridos no sistema através da base de dados, assim como sobre as condições necessárias para o estabelecimento de um mapa de risco da região de interesse. Para cada pixel do mapa da região de interesse, se faz o cálculo da integração de probabilidades de forma paralela, para se obter o resultado.

Apesar de aumentar a complexidade do algoritmo de mapeamento dos riscos, ao se inserir momentos no código para estabelecimento de comunicação entre os nós, o uso do Apache Spark contribui para que se aplique a solução proposta em situações onde se pode ter alta resolução nos



mapas de risco. Nessa situação o uso de arquitetura convencional se torna proibitivo dada a demanda de memória e velocidade de processamento.

#### 4. Conclusões

O uso de arquiteturas paralelas de processamento de dados combinadas com a plataforma Apache Spark tem sido bastante utilizado em situações de grandes volumes de dados. Este trabalho apresentou a modelagem de um algoritmo paralelo para a geração de mapas de riscos à qualidade de solo. Os resultados indicam que além do caráter inovador há grande potencial para ganho de desempenho, assim como, para obtenção de mapas de risco considerando as probabilidades de ocorrência das variáveis e sua integração em uma figura de mérito para análise sistêmica.

#### Agradecimentos

Este trabalho recebe apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Processo 17/19350-2, via convênio que envolve a IBM Brasil e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Os autores também agradecem o apoio institucional da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) e do Instituto Federal de São Paulo.

#### Referências

- ANDREWS, S. S.; KARLEN, D. L.; CAMBARDELLA, C. A. The Soil Management Assessment Framework: A Quantitative Soil Quality Evaluation Method. . Soil Science Society of America Journal, v. 68, p. 1945–1962, 2004.
- COUNCIL, N. R. Soil and water quality: an agenda for agriculture. [s.l.] National Academies Press, 1993.
- CRUVINEL, P. E. et al. Avaliação de modelos para estabelecimento de figura de risco de ocorrência da Sigatoka-Negra em bananais. Embrapa Instrumentação-Documents (INFOTECA-E), p. 28, 2011.
- CRUVINEL, P. E. et al. Ferramenta digital avançada para o gerenciamento de riscos agrícolas. Disponível em: <<https://bv.fapesp.br/pt/auxilios/100768/ferramenta-digital-avancada-para-o-gerenciamento-de-riscos-agricolas/>>.
- DEAN, J.; GHEMAWAT, S. MapReduce: Simplified Data Processing on Large Clusters. Commun. ACM, v. 51, n. 1, p. 107–113, 2008.
- HASHEM, I. A. T. et al. MapReduce: Review and open challenges. Scientometrics, v. 109, n. 1, p. 389–422, 2016.
- SNAKIN, V. V et al. The system of assessment of soil degradation. Soil Technology, v. 8, n. 4, p. 331–343, 1996.
- SPARK, A. Apache Spark - Lightning-fast unified analytics engine. Disponível em: <<https://spark.apache.org/>>. Acesso em: 11 set. 2019.
- SUMNER, M. E. Handbook of soil science. [s.l.] CRC press, 1999.
- ZAHARIA, M. et al. Apache Spark: A Unified Engine for Big Data Processing. Commun. ACM, v. 59, n. 11, p. 56–65, 2016.

**ERRO TRANSVERSAL DE PERCURSO EM ENSAIO CINEMÁTICO DE RECEPTORES GNSS**G. S. Pereira<sup>1,\*</sup>, H. C. Bazame<sup>1</sup>, L. P. de Magalhães<sup>1</sup>, M. F. Westphalen<sup>1</sup>, J. P. Molin<sup>2</sup><sup>1</sup> *Discente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Sistemas Agrícolas, Esalq-USP, Av. Pádua Dias 11, 13418-900, Piracicaba, SP*<sup>2</sup> *Docente do Departamento de Engenharia de Biossistemas, Esalq-USP, Av. Pádua Dias 11, 13418-900, Piracicaba, SP*\* *Autor correspondente, e-mail: gislainepereira@usp.br*

**Resumo:** A utilização de Sistemas Globais de Navegação por Satélite (GNSS) expandiu-se na agricultura aliada à necessidade de maior acurácia para execução de atividades agrícolas. O objetivo deste trabalho foi comparar o erro transversal de quatro receptores código C/A e dois receptores frequência L1 com código P, utilizando como referência um GNSS com sistema de correção Real Time Kinematic (RTK) sob condição cinemática. Para o ensaio, o utilitário percorreu quatro trechos retilíneos com extensão de 140 m cada. O erro transversal foi obtido por meio do desvio perpendicular entre os pontos coletados em cada tratamento e o receptor RTK. Para realizar a avaliação de desempenho dos receptores foram estimados o erro médio, erro 50% (mediana), a frequência acumulada do erro transversal, a raiz quadrada média do erro (RMS), o desvio padrão  $2\sigma$  e o coeficiente de variação. O desempenho dos receptores de frequência L1 não apresentaram similaridade com os receptores todos código C/A, proporcionando comportamento diferente em termos de erros transversal.

**Palavras-chave:** agricultura de precisão, erro de percurso, RTK.

***PATH ERROR IN KINEMATIC TESTING OF GNSS RECEIVERS***

**Abstract:** The use of Global Navigation Satellite Systems (GNSS) has expanded in agriculture allied to the need for greater precision to perform agricultural activities. The objective of this work was to compare a transverse error of four C / A code receivers and two P-code L1 frequency receivers, using as reference a GNSS with Real-time Kinematic Correction System (RTK) under kinematic condition. For the test, the utility ran four rectilinear trails with a length of 140 m each. The transverse error was verified by the perpendicular deviation between the points collected in each treatment and in the RTK receiver. To perform an estimated receiver performance or mean error, error 50% (median), mean transverse error frequency, root mean square error (RMS), standard deviation  $2\sigma$  and the coefficient of variation. The performance of L1 frequency receivers did not show similarity with all C / A code receivers, resulting in different behavior in terms of transverse errors.

**Keywords:** precision agriculture, error of route, RTK.

**1. Introdução**

O termo Agricultura de Precisão (AP) surgiu há mais de 25 anos (MOLIN, 2017) impulsionando o desenvolvimento de diversas tecnologias que facilitaram a adoção dessa prática de manejo da produção agrícola. O sensoriamento remoto (SR), o sistema de informação geográfica (SIG) e os sistemas de navegação global por satélites (GNSS) são tecnologias centradas no conceito da prática de AP (DALLMEYER & SCHLOSSER, 1999).

A utilização do sistema GNSS possibilita investigar e realizar tratamentos diferenciados em áreas distintas através da marcação e localização de pontos em regiões específicas de uma área (STABILE & BALASTREIRE, 2006). Além disso, fornece coordenadas para operações ou

atividades que exigem algum tipo de orientação (ANTUNIASSI et al., 2007). Para a adoção dessa prática, o sistema de navegação utilizado precisa produzir dados que sejam confiáveis e consistentes (BALASTREIRE, 2001). Junto ao avanço dessas ferramentas encontram-se algumas problemáticas relacionadas ao desempenho destes equipamentos, como os erros que atuam no sistema de posicionamento, sendo alguns deles: o erro dos relógios, tanto dos satélites como dos receptores, o erro transversal, a refração pela interferência da ionosfera ou da troposfera, a reflexão de sinal, os pequenos desvios da órbita dos satélites, entre outros (MOLIN et al., 2015). Os erros de posicionamento podem ser mensurados estática ou cinematicamente comparando a posição adquirida pelo receptor sob avaliação e as coordenadas reais do seu posicionamento, bastando para isso a referência deste posicionamento.

O desempenho de receptores de GNSS tem sido avaliado em ensaios tanto estáticos quanto cinemáticos, com o objetivo de oferecer informações confiáveis aos usuários destes equipamentos para a correta seleção entre as soluções disponíveis no mercado (STABILE & BALASTREIRE, 2006, SANTOS et al., 2016, MOLIN & CARRERA, 2006, MACHADO & MOLIN, 2011). Partindo deste pressuposto, o objetivo deste trabalho foi comparar o erro transversal de quatro receptores código C/A e dois receptores frequência L1 com código P utilizando como referência um GNSS com sistema de correção *Real Time Kinematic* (RTK) sob condição cinemática.

## 2. Materiais e Métodos

O ensaio foi realizado sob condição cinemática em uma área de gramado localizada no Departamento de Engenharia de Biosistemas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP, em Piracicaba, SP. O centro da área é localizado a 22°42’48” de latitude sul, 47°37’42” de longitude oeste e 536 m de altitude, Datum WGS-84 (Figura 1). O utilitário Gator (Deere & Company, Illinois, USA) foi escolhido como meio de condução dos receptores para a realização do ensaio, com velocidade média de 1,39 m s<sup>-1</sup> (5 km h<sup>-1</sup>), buscando simular a velocidade utilizada em atividades agrícolas, como semeadura e preparo do solo.

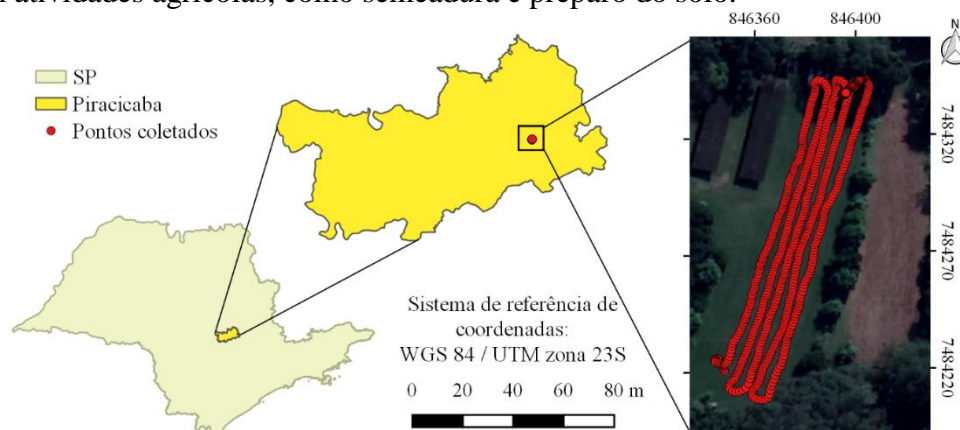


Figura 1. Trajeto percorrido na avaliação do erro de percurso de receptores GNSS em relação ao estado de São Paulo, Brasil.

No ensaio foram utilizados seis receptores GNSS, sendo quatro receptores de navegação (código C/A) e dois receptores GPS L1 associados ao dispositivo guia denominado de barra de luzes, conforme descrito na Tabela 1. A frequência de coleta dos dados pelos receptores foi de 1 Hz. Como referência foi utilizado o receptor RTK R-3 Topcon (GR3 Topcon®). O receptor RTK possui 72 canais universais, prontos para rastrear os sinais L1, L2 e L2C dos satélites GPS, além da constelação Glonass, opcionalmente, o sinal L5 e o sistema Galileo. Para o uso do receptor RTK, considerou-se a metodologia descrita por Molin & Carreira (2006). Foi firmado um marco geodésico, denominado estação base, a partir do estacionamento do receptor GNSS de frequência L1/L2 equipado com um transmissor de rádio VHF conectado ao receptor móvel instalado no veículo. A base fixa tem a função de gerar e transmitir dados de correção em tempo real para o

receptor móvel. Um conjunto RTK instalado nessas condições permite uma acurácia na ordem de 2 cm (MOLIN & CARREIRA, 2006).

Tabela 1. Descrição dos receptores GNSS utilizados para ensaio cinemático.

Receptor	Descrição	Tipo
1	Garmin GPSmap 62S	C/A
2	Garmin GPSmap 62S com o sinal WAAS ativado	C/A
3	eTrex 30X com sinal GPS e Glonass	C/A
4	Smartphone com sistema operacional Android, modelo ASUS ZenFone Zoom com aplicativo Campeiro 7 instalado	C/A
5	Receptor embutido em barra de luzes Trimble Beacon	L1
6	Receptor embutido em barra de luzes Trimble Hurricane	L1

Antes de iniciar o ensaio, os receptores GNSS foram ligados, e assim permaneceram durante 30 minutos. O utilitário percorreu o percurso de quatro passadas de 140 m em linha reta, totalizando 700 m. Os dados das regiões de manobras de cabeceira foram removidos, por não representarem área útil. O percurso foi repetido seis vezes com intervalo entre coletas de 30 minutos. O datum configurado em todos os receptores foi o WGS-84. Os dados foram coletados em coordenadas geográficas (latitude e longitude) e convertidos para coordenadas planas UTM (Universal Transversa de Mercator).

A obtenção do erro transversal foi realizada por meio da distância perpendicular entre os pontos coletados em cada tratamento e o receptor RTK. Os dados foram tabulados no software Microsoft Excel®, e uma rotina de programação foi implementada em linguagem *Python*, com o auxílio das bibliotecas *fiona*, *UTM* e *pandas*. O cálculo dos erros se baseou na diferença entre as coordenadas de cada ponto coletado em campo pelos receptores testados com sua respectiva referência (receptor RTK). Os indicadores de desempenho erro médio, mediana (erro 50%), frequência acumulada, raiz quadrada do erro médio (RMS), desvio padrão  $2\sigma$  (95% de probabilidade) e coeficiente de variação foram estimados para todos os tratamentos. O desvio padrão  $2\sigma$  foi submetido a análise de variância, e em caso de diferença significativa efetuou-se o teste Tukey ( $p < 0,05$ ) utilizando o *software R*.

### 3. Resultados e Discussão

A frequência acumulada do erro transversal dos receptores GNSS em condição cinemática é apresentada na Figura 2. Nota-se uma clara distinção na frequência de erros entre os receptores código C/A e GPS L1. Houve a separação dos receptores de acordo com seus respectivos grupos, exceto pelo receptor 3, que apresentou frequência de erros semelhante aos receptores 5 e 6. Os receptores frequência L1 (5 e 6) alcançaram em 95% das vezes erros  $2\sigma$  de 2,58 m e 2,31 m, respectivamente. Os receptores código C/A obtiveram 95% dos erros entre 2,00 e 6,90 m.

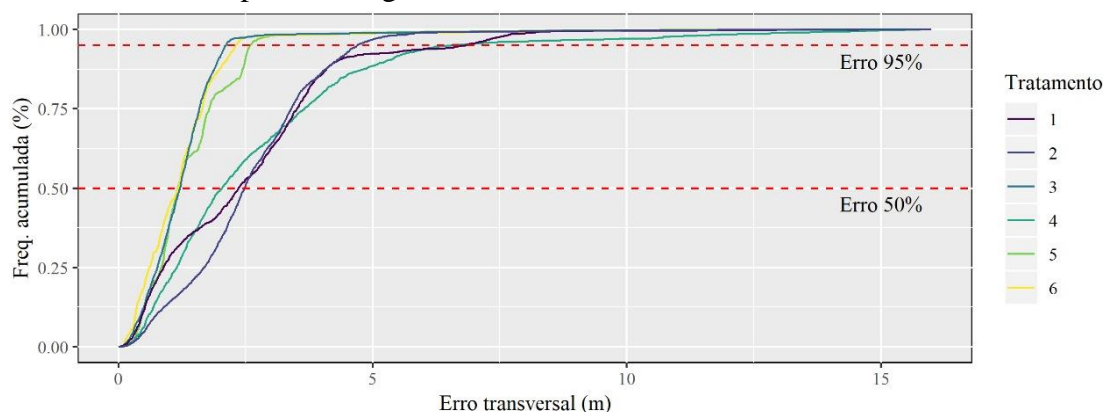


Figura 2. Frequência acumulada (%) do erro transversal dos receptores GNSS avaliados.

Os indicadores de desempenho erro  $2\sigma$ , erro médio, mediana, RMS e coeficiente de variação são apresentados na Tabela 2. Os receptores 3, 5 e 6 obtiveram erro médio menor que 1,50 m, já os receptores 1, 2 e 4 atingiram erro médio acima de 2,50 m. As diferenças entre os erros médios dos receptores em comparação ao referencial, podem ser atribuídas à característica de cada receptor ou às condições atmosféricas no momento da coleta dos dados, que podem ter influenciado na redução da velocidade de comunicação entre os satélites e os receptores (SANTOS et al., 2016). Em relação a mediana, observa-se que os receptores código C/A obtiveram erro 50% das vezes maior que 2,00 m, o que não foi evidenciado para os GPS L1 com menores medianas.

Os valores observados de erro médio, apresentaram diferença estatística entre o receptor 4, os receptores 3, 5 e 6; e os receptores 1 e 2. As diferenças significativas entre os erros transversais em comparação ao referencial, podem ser atribuídas aos erros sistemáticos que degradam a confiabilidade e a acurácia do posicionamento realizado com o GPS, por isso foram realizadas repetições buscando minimizar os erros causados por reflexões do sinal em superfícies próximas ao receptor, tais como construções, carros, árvores e os efeitos secundários causados por reflexões do próprio satélite e durante a propagação do sinal (HOFMANWELLENHOF et al., 1997; ALVES et al., 2004).

Tabela 2. Indicadores de desempenho dos receptores GNSS ensaiados sob condição cinemática.

Receptor	Erro médio (m)	Mediana (m)	Erro $2\sigma$ (m)	RMS (m)	CV(%)
1	2,52B	2,36	6,82	3,16	76,02
2	2,58B	2,47	4,69	2,95	55,45
3	1,27A	1,20	2,10	1,64	81,10
4	2,72C	2,03	6,53	3,64	89,22
5	1,40A	1,16	2,58	1,74	73,54
6	1,25A	1,17	2,31	1,68	90,61

\*Médias do erro médio seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os receptores frequência L1 apresentaram RMS maior que 1,60 m, O RMS para os receptores código C/A esteve entre 1,60 m e 3,64 m. Stombaugh et al. (2005), ao avaliarem o erro RMS em receptores de código C/A encontraram valores entre 1,6 m e 5,8 m durante simulação de práticas agrícolas e de 0,85 m e 3,00 m para trajetos retilíneos. Estes valores de erro RMS durante a simulação de práticas agrícolas se aproximam dos valores encontrados no presente estudo. O coeficiente de variação dos dados coletados de todos os receptores esteve acima de 30%, indicando uma alta variação nos dados.

Para atividades agrícolas específicas, como semeadura de grãos e a colheita, que requerem acurácia da ordem de 0,30 m, bem como o controle de tráfego (acurácia de 0,02-0,04 m) nenhum dos receptores GNSS avaliados seriam indicados. Pois, o erro de paralelismo interfere no caminho planejado para as máquinas efetuarem operações a campo, aumentando a sobreposição entre passagens do conjunto mecânico (SANTOS et al., 2017). O aumento da produtividade e lucros podem ser alcançados reduzindo os erros de paralelismo, pois conseqüentemente diminui as perdas de alinhamento adequando a semeadura e a colheita de culturas agrícolas (ORTIZ et al., 2013). Por outro lado, o erro transversal obtido é a representação do erro de posicionamento em uma direção e não deve ser muito diferente de outras, portanto indica a magnitude de erro em uma navegação, por exemplo. Isso implica em se considerar que em navegações que visam amostragens georreferenciadas essas são as magnitudes de erros esperados por esses receptores.

#### 4. Conclusões

Os receptores código C/A e receptores frequência L1 com código P utilizados para atividades em condição cinemática apresentaram diferença entre si, proporcionando comportamento diferente em termos de erros transversal.

**Referências**

- ALVES, D.; MONICO, J. F. G.; MENEGUETTE JR, M. Atenuação de erros sistemáticos no posicionamento relativo GPS utilizando dados de receptores de simples frequência. **Anais ...** In: Série em Ciências Geodésicas - Cartografia. Instrumento de Renovação Política e Inovação Tecnológica, Curitiba: Imprensa Universitária, 2004, v. 4, p. 16-30.
- ANTUNIASSI, U. R.; BAILO, F. H. R.; SHARP, T. C. Agricultura de Precisão. **Anais...** In: congresso brasileiro do algodão. Uberlândia. Uberlândia: CNPA, 2007, p. 11-21.
- BALASTREIRE, L.A. Avaliação do desempenho de um sistema de georreferenciamento portátil de baixo custo para Agricultura de Precisão. **Anais...** In: Avanços na agricultura de precisão no Brasil no período de 1999-2001, Piracicaba: Balastreire, L.A. ,2001, p.282-4.
- DALLMEYER, A. U.; SCHLOSSER, J. F. Mecanización para La agricultura de precisión. In: BLU, R. O.; MOLINA, L. F. Agricultura de precisión – Introducción al manejo sitio-específico. Chillán – Chile, cap. 3, p. 75-104, 1999.
- HOFMANN-WELLENHOF, B.; LICHTENEGGER, H.; COLLINS, J. GPS Theory and Practice. 4 ed. Wien: Springer-Verlag, 1997, 326p.
- MACHADO, T.M.; MOLIN, J.P.; Ensaios estáticos e cinemáticos de receptores de GPS. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 9, p. 981-988. 2011,
- MARTINS, R. N.; AURELIANO NETO, A. F.; ZANELLA, M. A.; VIANA, L. A.; SOUZA, M A. R.; QUEIROZ, D. M. Análise da precisão de diferentes receptores GNSS para coleta de dados. **Anais...**In: XXI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, Universidade do Vale do Paraíba, 2017.
- MOLIN, J. P. Agricultura de precisão: números do mercado brasileiro. Boletim Técnico 03, Piracicaba: Laboratório de Agricultura de Precisão, 7p, 2017, Disponível em: <<http://www.agriculturadeprecisao.org.br/upimg/publicacoes/boletim-tecnico-03.pdf>>. Acesso em: 31 mar, 2019.
- MOLIN, J.P.; AMARAL, L. R.; COLAÇO, A. F. **Agricultura de Precisão**. 1 ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2015.
- MOLIN, J. P; CARREIRA, P. T. Metodologia para ensaios cinemáticos de receptores de GNSS utilizando um GPS RTK como referência. **Revista Brasileira de Agroinformática**, v. 8, p. 53-62, 2006.
- ORTIZ, B. V.; BALKCOM, K. B.; DUZY, L.; SANTEN, E. VAN; HARTZOG, D. L. Evaluation of agronomic and economic benefits of using RTK-GPS-based auto-steer guidance systems for peanut digging operations. **Precision Agriculture**, v. 14, p. 357-375, 2013.
- SANTOS, R.S.; BRAGA, J. O. F.; RAMOS, C. R. G.; LANÇAS, K. P. Utilização de receptor de sinal de gps de navegação como ferramenta de apoio à atividade agropecuária. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 31, n. 1, p. 97-101, janeiro-março, 2016.
- SANTOS, A. F.; SILVA, R. P.; TAVARES, T.O.; ORMOND, A. T. S.; ROSALEN, D. A.; ASSIS, L. C. Parallelism error in peanut sowing operation with auto-steer guidance. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n.10, 731-736, 2017.
- STABILE, M. C. C.; BALASTREIRE, L.A. Comparação de três receptores GPS para uso em agricultura de precisão. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 215-223, 2006
- STOMBAUGH, T.; COLE, J.; SHEARER, S.; KOOSTRA, B. A Test facility for evaluating dynamic GPS accuracy. **Abstracts...** In: European Conference on Precision Agriculture. 6, 2005, Berlin, St, Joseph: Wageningen Academic Publishers, p. 605-612, 2005.

USO DA PLATAFORMA APSIM PARA DEFINIÇÃO DE  
ÉPOCAS DE ADUBAÇÃO DO CAPIM PIATÃ

José Ricardo Macedo Pezzopane<sup>1,\*</sup>, Patrícia Menezes Santos<sup>1</sup>, Sara de Oliveira Romeiro Lopes<sup>2</sup>,  
Cristiam Bosi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, Fazenda Canchim, CP 28, 13560-970, São Carlos, SP

<sup>2</sup> ESALQ/USP, Av. Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, SP

\* Autor correspondente, e-mail: jose.pezzopane@embrapa.br

**Resumo:** O trabalho teve por objetivo a definição de critérios de recomendação de épocas de adubação do capim Piatã (*Urochloa brizantha*) utilizando a plataforma de simulação APSIM. Com os dados climáticos de 1980 a 2010 para quatro localidades do estado de São Paulo (São Carlos, Itapetininga, Araçatuba e São José do Rio Preto), foram realizadas simulações da produção mensal do capim em quatro condições de manejo: irrigado com adubação nitrogenada em dose de 550 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, irrigado sem adubação nitrogenada, sequeiro com adubação nitrogenada em dose de 550 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> e sequeiro sem adubação. Com base nas simulações de produção foram estabelecidas as relações entre as variáveis ambientais temperatura do ar e armazenamento de água no solo com a eficiência da adubação nitrogenada. A análise das relações permitiu estabelecer os valores de 23°C e armazenamento relativo de água no solo de 0,67 como parâmetros para recomendação das épocas de adubação nitrogenada. A análise temporal desses parâmetros para as localidades estudadas permitiu estabelecer as épocas de recomendação da adubação nitrogenada baseada em parâmetros climáticos.

**Palavras-chave:** nitrogênio, modelagem, temperatura, disponibilidade hídrica, *Urochloa brizantha*.

**USING THE APSIM SIMULATION PLATFORM TO DEFINE RECOMMENDATION FOR  
FERTILIZATION PERIODS IN PIATÃ PALISADEGRASS**

**Abstract:** This study aimed to determine criteria for recommendation of Piatã palisadegrass (*Urochloa brizantha*) fertilization based on the simulation of forage production made by APSIM simulation platform. Using climate data from 1980 to 2010, in four locations (São Carlos, Itapetininga, Araçatuba and São José do Rio Preto) in the state of São Paulo, simulations of monthly forage production were performed under four management conditions: irrigated with nitrogen fertilization in 550 kg ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>, irrigated without nitrogen fertilization, rainfed with nitrogen fertilization in 550 kg ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> and rainfed without nitrogen fertilization. From the pasture yield simulations, the relationship between air temperature and soil water storage with nitrogen fertilization efficiency were established. Relationship analysis allowed establishing values of 23°C and relative soil water storage of 0.68 as parameters for recommendation of nitrogen fertilization periods. The temporal analysis of these parameters for the studied locations allowed establishing the periods of recommendation of nitrogen fertilization based on climatic parameters.

**Keywords:** nitrogen, modeling, temperature, water availability, *Urochloa brizantha*.

**1. Introdução**

Frequentemente são realizados questionamentos por parte do setor produtivo sobre aspectos relacionados às condições climáticas e atividades de planejamento ou tomada de decisão em uma propriedade rural. Mais especificamente na pecuária intensiva, o manejo da adubação nitrogenada, com a recomendação de épocas de aplicação, pode ser beneficiado a partir dos estudos dessas relações.

A eficiência da utilização do nitrogênio (EUN), definida como a quantidade em kg de

matéria seca produzida por kg de nitrogênio aplicado, é influenciada por fatores ambientais como a temperatura do ar e disponibilidade hídrica. A aplicação do fertilizante em momento inadequado poderá resultar em baixos valores de EUN decorrendo em problemas de baixa produtividade e contaminação ambiental.

O uso de modelos de processos para estimativas de produção de forrageiras tropicais e tomada de decisão em sistemas pecuários tem aumentado na última década (Andrade et al., 2015). Uma das opções utilizadas na simulação é o uso da plataforma APSIM (*Agricultural Production System Simulator*), cuja estrutura consiste em um modelo mecanístico composto por módulos desenvolvidos para simular processos biofísicos em agroecossistemas (Keating et al., 2003; Holzworth et al., 2014). Recentemente a plataforma APSIM tem passado por melhorias visando incorporar funções não contempladas na versão APSIM 7.x e melhorar a predição da produtividade de forrageiras C4, sendo essa nova versão chamada APSIM Next Generation (Holzworth et al., 2018). Para as condições brasileiras, Bosi (2017) realizou a adaptação dessa versão para a forrageira *Urochloa brizantha* (cv. Piatã).

O uso dos modelos de simulação que levem em consideração o efeito das variáveis ambientais na produção de forragens pode facilitar o planejamento e as decisões administrativas na propriedade rural. O objetivo desse trabalho foi identificar o efeito das condições climáticas na eficiência da adubação nitrogenada no capim Piatã, por meio de simulação na plataforma APSIM, e determinar critérios para recomendação de época de adubação.

## 2. Materiais e Métodos

O trabalho foi desenvolvido com simulações da produção do capim Piatã pela plataforma APSIM a partir da sua parametrização realizada por Bosi (2017).

Com os dados climáticos de 1980 a 2010 para quatro localidades do estado de São Paulo (São Carlos, Itapetininga, Araçatuba e São José do Rio Preto), foram realizadas simulações da produção mensal do capim em quatro condições de manejo: irrigado com adubação nitrogenada em dose de 550 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, irrigado sem adubação nitrogenada, sequeiro com adubação nitrogenada em dose de 550 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> e sequeiro sem adubação nitrogenada.

A partir das simulações de produções foram estabelecidas as relações entre as variáveis ambientais temperatura do ar e armazenamento de água no solo com a eficiência da adubação nitrogenada (EUN), que é definida pela diferença de produção de matéria seca entre o cultivo adubado e sem adubação, dividida pela dose de nitrogênio aplicada.

Numa primeira abordagem foi estabelecida a relação entre a temperatura do ar e a EUN para os cultivos irrigados por meio da análise de regressão linear. A partir da equação de regressão linear e baseado no trabalho de Martha Junior et al. (2004) foram definidos os valores de temperatura do ar para elevada eficiência de uso do nitrogênio (>45 kgMS KgN<sup>-1</sup>). Posteriormente, para os ciclos de produção conduzidos sob irrigação em que a EUN foi classificada como elevada, foi estabelecida a relação entre o armazenamento relativo de água no solo (relação do armazenamento de água no cultivo de sequeiro e irrigado) e a EUN por meio da análise de regressão linear.

Para as análises de regressão linear, o método de resíduos padronizados foi utilizado para eliminar valores discrepantes, com valores menores que -2 e maiores que +2. A partir das definições dos critérios de EUN e considerando as condições climáticas das localidades de estudo, foram determinadas as épocas do ano favoráveis para a adubação nitrogenada.

## 3. Resultados e Discussão

A partir das simulações para ciclos mensais de crescimento do capim Piatã, no período de 1980-2010, dos cultivos com e sem adubação (ambos irrigados) foi estabelecida a relação entre temperatura do ar e eficiência do uso de adubação nitrogenada. De acordo com o critério de Martha Jr et al. (2004), ciclos de cultivo com temperatura acima de 23°C apresentaram elevada eficiência de adubação (Figura 1, esquerda). Para ciclos com temperatura acima desse valor, a relação entre o armazenamento relativo de água no solo (relação do armazenamento de água no cultivo de sequeiro



e irrigado) e a EUN entre esses manejos, apresentou o valor de 0,68 com o teor relativo de água no solo acima do qual a EUN foi elevada (Figura 1, direita).

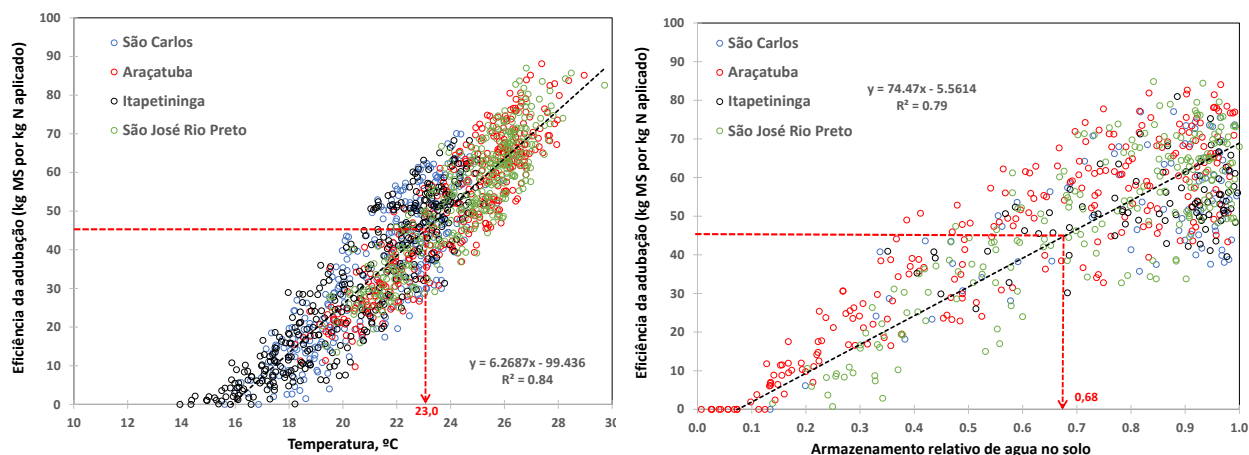
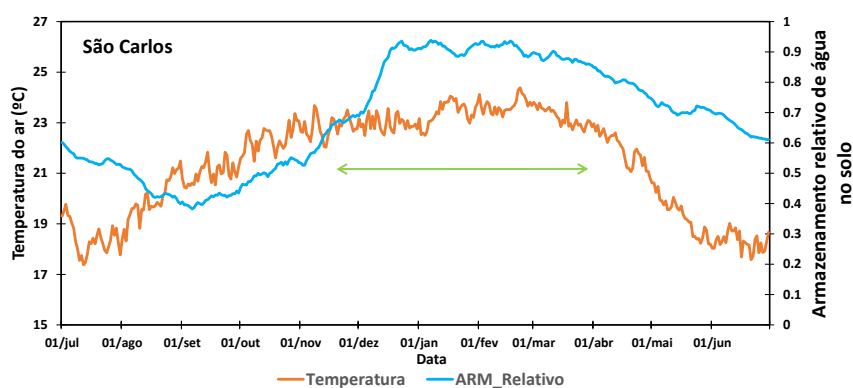


Figura 1. Relação entre a temperatura do ar (esquerda) e o armazenamento relativo (sequeiro/irrigado) de água no solo (direita) e eficiência da adubação nitrogenada em ciclos mensais de produção do capim Piatã em quatro localidades do estado de São Paulo durante o período de 1980-2010.

A partir dos critérios de temperatura e água no solo e considerando os valores médios do período de 1980-2010 foram identificados os períodos do ano com atendimento desses critérios para se obter elevada EUN (Figura 2). Os períodos de elevada EUN variaram em função das condições ambientais para as localidades, sendo compreendido entre 20 de novembro e 30 de março para São Carlos, 05 de dezembro a 30 de abril para São José Rio Preto, 10 de dezembro a 10 de abril para Araçatuba e 15 de dezembro a 20 de março para Itapetininga.

De maneira geral, nas regiões Sudeste e Centro-Oeste no período de outubro e abril, as forrageiras tropicais apresentam maior crescimento (Pezzopane et al., 2012), sendo frequentemente associada a esse período a recomendação de adubação nitrogenada. Os resultados encontrados nesse trabalho mostram que esse período pode sofrer alterações em função das condições ambientais das regiões. Para São Carlos e Itapetininga, o fator térmico apresentou maior influência em comparação ao fator hídrico. Nesse caso o uso antecipado da adubação poderá apresentar nos ciclos iniciais do ano agrícola menor eficiência de uso do nitrogênio. Quando a limitação do período esta associada com o fator hídrico, como é o caso dos municípios de São José do Rio Preto e Araçatuba, o uso da irrigação poderá antecipar esse período, proporcionando elevada eficiência da adubação.

Apesar dessa análise se basear nas condições climáticas de cada região, podem haver variações anuais desse período em função das condições de tempo vigentes. Nesse caso além do uso como ferramenta de planejamento, a definição e uso desses critérios poderão auxiliar na tomada de decisão do manejo da adubação em pastagens.



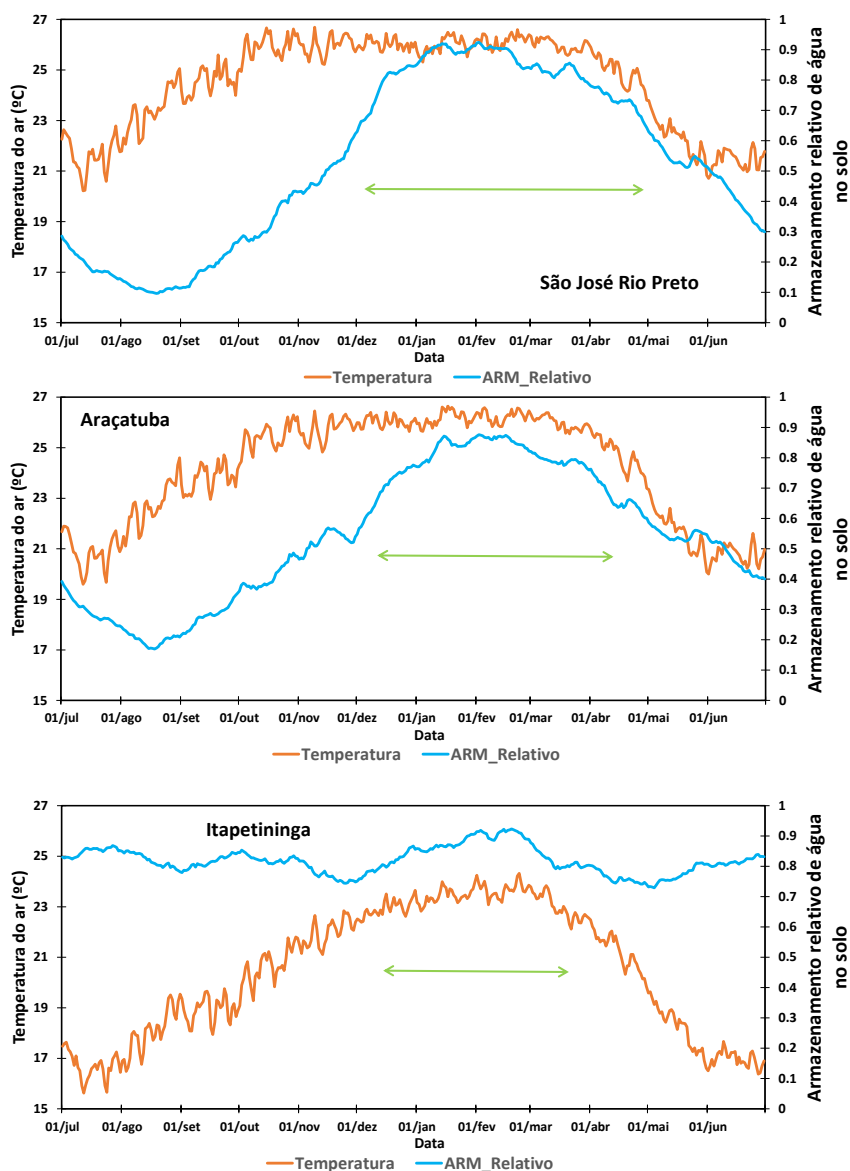


Figura 2. Temperatura do ar e armazenamento relativo de água no solo (relação do armazenamento de água no cultivo de sequeiro e irrigado) para quatro localidades do estado de São Paulo e o período recomendado para elevada eficiência do uso de nitrogênio (linhas de cor verde).

#### 4. Conclusões

O uso da Plataforma APSIM se mostrou uma ferramenta útil para a definição dos critérios térmicos e hídricos relacionados à adubação nitrogenada do capim Piatã, identificando para as localidades do estudo períodos com elevada eficiência do uso de nitrogênio.

#### Agradecimentos

À Embrapa pelo financiamento do projeto de pesquisa (projeto Pecuária do Futuro, nº 22.16.05.021.00), ao CNPq pela concessão de bolsa aos primeiro e segundo autores e à Capes pela concessão de bolsa aos terceiro e quarto autores.

#### Referências

ANDRADE, A.S.; SANTOS, P.M.; PEZZOPANE, J.R.M.; ARAUJO, L.C. ; PEDREIRA, B. C.; PEDREIRA, C.G.S.; MARIN, F.R ; LARA, M.A.S. Simulating tropical forage growth and biomass accumulation: an overview of model development and application. Grass and Forage Science, v. 71, n.1, p. 54-65, 2015.

- BOSI, C. Parameterization and evaluation of mechanistic crop models for estimating *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã productivity under full sun and in silvopastoral system. 2017. 158p. 8. Tese (Doutorado em Engenharia de Sistemas Agrícolas) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- HOLZWORTH, D.P.; HUTH, N.I.; DEVOIL, P.G.; ZURCHER, E.J.; HERRMANN, N.I.; MCLEAN, G.; CHENU, K.; OOSTEROM, E.J.; SNOW, V.; MURPHY, C.; MOORE, A.D.; BROWN, H.; WHISH, J.P.M.; VERRAL, S.; FAINGES, J.; BELL, L.W.; PEAKE, A.S.; POULTON, P.L.; HOCHMAN, Z.; THORBURN, P.J.; GAYDON, D.S.; DALGLIESH, N.P.; RODRIGUEZ, D.; COX, H.; CHAPMAN, S.; DOHERTY, A.; TEIXEIRA, E.; SHARP, J.; CICHOTA, R.; VOGELER, I.; LI, F.Y.; WANG, E. APSIM - Evolution towards a new generation of agricultural systems simulation. *Environmental, Modelling & Software*, v. 62, p. 327-350, 2014.
- HOLZWORTH, D.; HUTH, N.I.; FAINGES, J.; BROWN, H.; ZURCHER, E.; CICHOTA, R.; VERRAL, S.; HERRMANN, N.I.; ZHENG, B.; SNOW, V. APSIM Next Generation: Overcoming challenges in modernizing a farming systems model. *Environmental, Modelling & Software*, v. 103, p.43-51, 2018.
- KEATING, B.A.; CARBERRY, P.S.; HAMMER, G.L.; PROBERT, M.E.; ROBERTSON, M.J.; HOLZWORTH, D.; HUTH, N.I.; HARGREAVES, J.N.G.; MEINKE, H.; HOCHMAN, Z.; MCLEAN, G.; VERBURG, K.; SNOW, V.; DIMES, J.P.; SILBURN, M.; WANG, E.; BROWN, S.; BRISTOW, K.L.; ASSENG, S.; CHAPMAN, S.; MCCOWN, R.L.; FREEBAIRN, D.M.; SMITH, C.J. An overview of APSIM, a model designed for farming systems simulation. *European Journal of Agronomy*, Amsterdam, v. 18, n. 3/4, p. 267-288, 2003.
- MARTHA JÚNIOR, G.B.; VILELA, L.; BARIONI, L. G.; SOUSA, D. M. G.; BARCELLOS, A. O. Manejo da adubação nitrogenada em pastagens. In: PEDREIRA, C.G.S.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. (Org.). *Fertilidade do solo para pastagens produtivas*. Piracicaba: FEALQ, v. 1, p. 155-215, 2004
- PEZZOPANE, J. R. M.; SANTOS, P. M.; BETTIOL, G. M.; BOSI, C.; PETINARI, I. B. Zoneamento de aptidão climática para os capins marandu e tanzânia na região sudeste do Brasil. São Carlos: EMBRAPA Pecuária Sudeste, 2012 (Documentos).

## COMPLEXO MULTI SENSOR DE MEDIDA DE DOSSEL DE PLANTA

L.M. Rabello<sup>1,\*</sup>, R.Y. Inamasu<sup>1</sup>, E. A. Speranza<sup>2</sup><sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo<sup>2</sup> Embrapa Informática Agropecuária, Av. André Tosello, 209, 13083-886, Campinas, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: ladislau.rabello@embrapa.br

**Resumo:** O NDVI ou Índice de Vegetação da Diferença Normalizada (*Normalized Difference Vegetation Index*) é muito usado em agricultura de precisão para analisar as condições das plantas e para medir a intensidade da atividade de clorofila. A intensidade de clorofila na planta pode nos dizer em que condições elas se encontram, possibilitando estudar a variação espacial, mapear o vigor das plantas melhorando a amostragem de campo. Este trabalho visa apresentar um sistema composto de 4 sensores ativos de medida de dossel com armazenamento dos dados de leitura georreferenciados, possibilitando assim a medida de várias linhas de plantio, com a finalidade de geração de mapas de índice de vegetação, NDVI e NDRE (*Normalized Difference Red Edge Index*).

**Palavras-chave:** crocircle, ndvi, ndre, sensor, agricultura de precisão.

**MULTI SENSOR PLANT CANOPY MEASUREMENT COMPLEX**

**Abstract:** The NDVI or Normalized Difference Vegetation Index is widely used in precision agriculture to analyze plant conditions and to measure the intensity of chlorophyll activity. The chlorophyll intensity in the plant can tell us under what conditions they are, making it possible to study the spatial variation, to map the vigor of the plants, improving field sampling. This work aims to present a system composed of 4 active canopy measurement sensors with storage of georeferenced reading data, thus enabling the measurement of several planting lines, with the purpose of generating vegetation index maps, NDVI and NDRE (*Normalized Difference Red Edge Index*).

**Keywords:** crocircle, ndvi, ndre, sensor, precision agriculture.

**1. Introdução**

No Brasil, a agricultura de precisão – AP teve início nos anos 90, por meio de receptores agrícolas GNSS (*Global Navigation Satellite System* - Sistema de Navegação Global por Satélite). Desde então novos equipamentos foram criados para obtenção de dados georreferenciados para utilização na agricultura. Os conceitos de AP surgiram em desenvolvimento de projetos vinculados a produção agrícola no ano de 2000. As indústrias de máquinas inovam, com sistemas georreferenciados, colhedoras com monitores de rendimento, piloto automático, posicionadores por barras de luz, sistemas destinados a fertilizantes, entre outros (INAMASU et al., 2011; INAMASU e BERNARDI, 2014).

O Laboratório de Referência Nacional Agricultura de Precisão - LANAPRE da Embrapa Instrumentação é utilizado para pesquisar e desenvolver equipamentos, sensores, componentes mecânicos e eletrônica embarcada. O LANAPRE possui o equipamento Crop Circle ACS-430 e vem desenvolvendo pesquisas com estes sensores de NDVI (índice de vegetação da diferença normalizada). Estes sensores são capazes de quantificar variações analisando a refletância das plantas de acordo com o espectro visível, no vermelho e infravermelho próximo, podendo medir a clorofila e biomassa (AMARAL, ROSA & MOLIN, 2012). Onde o nitrogênio (N) é o nutriente mais restritivo para produtividade de culturas. A equação do índice de vegetação utilizado no monitoramento de culturas se compõe da seguinte maneira, equação 01, (HOLLAND, 2018):

$$NDVI = \frac{(R_{NIR} - R_R)}{(R_{NIR} + R_R)} \quad \text{eq. (1)}$$

O NDVI é computado realizando aritmética de canais espectrais dos sensores, na maioria dos casos provenientes de satélites. A figura 1 ilustra as faixas do espectro eletromagnético na qual existe absorção pela vegetação.

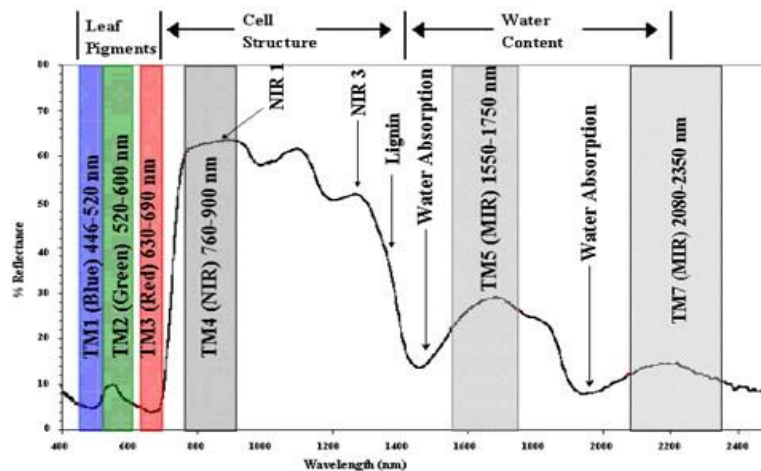


Figura 1. Espectro magnético referente a absorção de plantas.

Como exemplo, as aplicações dos cálculos de NDVI na agricultura podem ser:

- Monitoramento de lavouras
- Detecção de efeitos de secas
- Detecção de danos provocados por pragas
- Estimativas de produtividade agrícola
- Modelização hidrológica
- Mapeamento de áreas agrícolas.

De acordo com a equação 01, a vegetação, quanto mais ativa, mais absorve a luz solar no espectro da luz vermelha, na realização do trabalho da clorofila nos tecidos vegetais (baixa intensidade de luz vermelha). Da mesma forma, as estruturas celulares das folhas provocam uma forte reflexão da luz solar na região do infravermelho próximo (alta intensidade de luz infravermelho)

Assim, área de forte atividade de clorofila:

- iv. Numerador : infravermelho(alto) – vermelho(baixo) = valor resultante alto;
- v. denominador : infravermelho(alto) + vermelho(baixo) = valor resultante alto;
- vi. Resultado : NDVI = sobe em direção a 1.

Para área de baixa atividade de clorofila:

5. Numerador : infravermelho (baixo) – vermelho (alto) = Valor resultante baixo
6. Denominador: infravermelho (baixo) + vermelho (alto) = Valor resultante alto
7. Resultado : NDVI = desce em direção a -1 .

## 2. Materiais e Métodos

Na figura 2 é ilustrado a montagem do sensor ACS-430, montado a uma altura  $h$  acima de um alvo plano. A largura do feixe de luz projetado quando montado a uma altura  $h$  acima de um alvo é definido pela equação 02:

$$w = 2 \cdot h \cdot \tan\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad \text{eq. 02;}$$

onde:

w = largura do feixe projetado;

h = altura do sensor acima do alvo;

$\theta$  = é o FOV (Field-of-view = campo de visão) angular em graus (45 ° para o sensor ACS-430)

Como  $\theta$  é definido como aproximadamente 45° para o sensor ACS-430 a equação 02 é resolvida da seguinte forma:

$$w = 0,82 * h; \quad \text{eq. 02;}$$

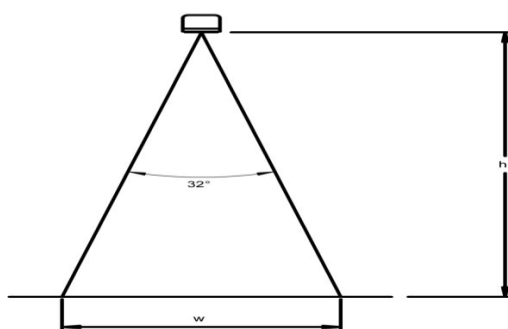


Figura 2. Montagem do sensor ACS430.

### Montagem do sensor na máquina.

A montagem dos sensores na máquina obedece o diagrama ilustrado na figura 3.

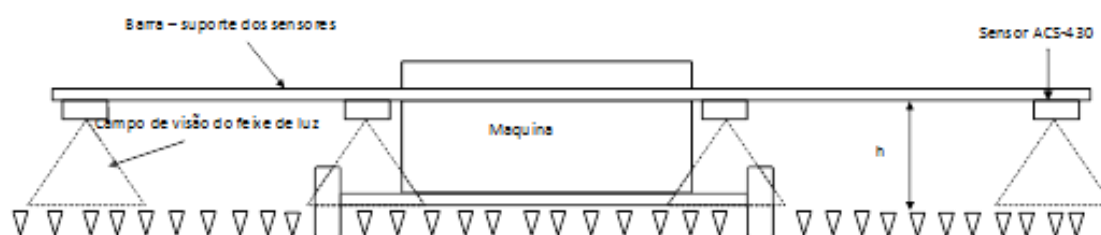


Figura 3. Diagrama de montagem dos sensores junto a máquina.

Uma barra foi colocada a frente da máquina, servindo como sustentação de 4 sensores ACS-430.

A distribuição dos sensores é de aproximadamente 1,5 m de cada um, sendo 4,5 metros entre sensores das extremidades ao comprimento da barra. Este cálculo é estimativo, pois dependerá da altura (h) de posição da barra com a máquina.

Um sistema GPS foi colocado junto a máquina para poder georreferenciar os sensores, Topcon Hiper AG. Para a coleta e armazenamento de dados foi utilizado um sistema computacional da Intel, *Intel desktop board*, modelo NUC DC3217IYE, core i3, 3 portas usb, 2 portas hdmi, porta ethernet, 16GB de memória e um programa computacional desenvolvido para controle de aquisição e armazenamento dos dados em linguagem C.

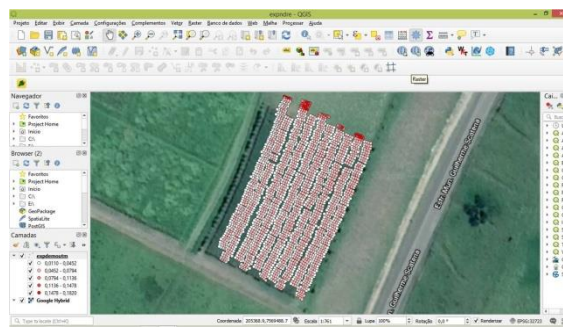
### 3. Resultados e Discussão

O sistema foi montado e testado em uma área do campo experimental da Embrapa Instrumentação, localizado no município de São Carlos-SP na rodovia municipal Guilherme Scatena km 5, onde se localiza o LANAPRE.

O equipamento foi testado em uma área de 400 metros quadrados em preparação para plantio de milho, o solo encontrava-se descoberto mas com área delimitadora em volta com vegetação de pastagem, o que dificultou de certa maneira a variação espacial dos valores de NDVI e NDRE aqusitados, na figura 4 é representado a distribuição dos pontos coletados, figura 4(a) valores NDVI, figura 4(b) valores NDRE.



(a)



(b)

Figura 4. (a) distribuição de pontos NDVI, (b) distribuição de pontos NDRE.

Mesmo com as poucas variações de valores tanto de NDVI como NDRE é possível ver as variações em alguns pontos que foram coletados fora da área de teste.

### 4. Conclusões

Mesmo não havendo as variações dos pontos coletados o sistema mostrou-se robusto em aplicações de campo coletando de forma ótima os valores e armazenamento de dados, possibilitando a geração de mapas para futuros atos de gerenciamento de zonas de manejo no que se refere aos valores de NDVI e NDRE com a produção de clorofila na atuação das necessidades das plantas, tais como falta de um determinado nutriente.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a Embrapa Instrumentação pelo uso do LANAPRE e infraestrutura do mesmo bem como ao Projeto de Agricultura de Precisão sob a Coordenação do Dr. Ricardo Inamasu, também pelo apoio a montagem do sistema, Ao Sr. Pedro Bonfim, pelas discussões agrônômicas e auxílio no manuseio das máquinas agrícolas, ao Dr. Eduardo Speranza pelo auxílio com a montagem dos mapas.

### Referências

- MACHADO, H. M. *Determinação da biomassa de cana-de-açúcar considerando a variação espacial de dados espectrais do satélite LANDSAT 7 – ETM+.*2003. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola)– Faculdade de Engenharia Agrícola. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- INAMASU, R. Y., A. C. C. BERNARDI, C. M. P. VAZ, J. M. NAIME, L. R. QUEIROS, A. V. RESENDE, M. F. VILELA, L. A. C. JORGE, L. H. BASSOI, N. B. PEREZ, E. P. FRAGALLE. Agricultura de precisão para a sustentabilidade de sistemas produtivos do agronegócio brasileiro. In: INAMASU, R. Y., J.M. NAIME, A. V. RESENDE, L. H. BASSOI, A. C. C. BERNARDI (Ed.). Agricultura de precisão: um novo olhar. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2011. p. 14-26.
- INAMASU, R.Y., A. C. C. BERNARDI, Agricultura de Precisão, In: INAMASU, R. Y., J.M. NAIME, A. V. RESENDE, L. H. BASSOI, A. C. C. BERNARDI (Ed.). Agricultura de Precisão:

Resultados de um Novo Olhar. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2014. p. 21-33

HOLLAND, Crop Circle ACS-430 active crop canopy sensor. Holland Scientific, Lincoln, NE, EUA. 2018.

AMARAL, L.C., ROSA, H.J.A., MOLIN, J.P., Comparação entre sensores de NDVI em cana-de-açúcar, In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRICULTURA DE PRECISÃO – ConBAP, 2012, Ribeirão Preto-SP, 24-26 Setembro 2012.



**ÍNDICES DE VEGETAÇÃO (SENTINEL-2) DA CANA-DE-AÇÚCAR RELACIONADOS  
COM A CONDUTIVIDADE ELÉTRICA APARENTE DE SOLO.**

C. A. G. Rodrigues<sup>1,\*</sup>, C. R. Grego<sup>2</sup>, G. M. Sanches<sup>3</sup>, E. A. Speranza<sup>2</sup>, C. C. Ronquim<sup>1</sup>, H. L. F. da  
Silveira<sup>1</sup>, A. Luchiari Jr.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Embrapa Territorial, Av. Soldado Passarinho, 303, 13070-115, Campinas, SP*

<sup>2</sup> *Embrapa Informática Agropecuária, Av. André Tosello, nº 209, Unicamp, Barão Geraldo, 13083-886, Campinas, SP*

<sup>3</sup> *Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP), Av. Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: cristina.rodrigues@embrapa.br*

**Resumo:** Os avanços da tecnologia de precisão levam à agricultura atual mais inovações voltadas ao gerenciamento mais detalhado do sistema de produção agrícola. Os produtos derivados dos sensores em satélites mais robustos (multiespectral, média e alta resolução espacial e temporal) também corroboram nos avanços. O objetivo do trabalho foi caracterizar o comportamento espectral e espacial de um talhão de primeiro ano de cana-de-açúcar durante o ciclo de produção (safra 2018/2019) a partir do cálculo de índices de vegetação (IV's) NDVI e NDre2 obtidos de imagens do Sentinel-2 em 18 datas da safra correlacionando-os aos dados da condutividade elétrica aparente do solo (CEa). Houve correlação positiva ( $p < 0,05$ ) entre a CEa mensurada nos espaçamentos de bobinas de 0,5 m e 1,0 m do solo e os IV's do canalial desde a implantação até o sétimo mês (223 dias após plantio – pico do crescimento), e negativa ( $p < 0,05$ ) a partir de outubro de 2018 até julho de 2019. No geral, houve similaridade de comportamento espacial e de valores de correlação positiva e negativa com os índices de vegetação avaliados (NDVI e NDre2) e a CEa do solo. A CEa do solo pode ser um indicador para manejos diferenciados na mesma safra da lavoura de cana.

**Palavras-chave:** NDVI, NDre2, correlação Spearman, cana-de-açúcar.

**RELATIONSHIP BETWEEN VEGETATION INDEX (SENTINEL-2) AND SOIL APPARENT ELECTRICAL CONDUCTIVITY IN SUGARCANE.**

**Abstract:** Advances in precision technology provide to today's agriculture more innovations that lead to a more detailed management of the agricultural production system. The products derived from more robust satellite sensors (multispectral, medium and high spatial and temporal resolution) also corroborate the advances. The objective of this study was to characterize the spectral and spatial behavior of a plot of sugarcane (first year) during the production cycle (2018/2019 crop season) using vegetation index calculations (IV's), NDVI and NDre2, taken from Sentinel-2 images on 18 dates correlating them to the apparent electrical conductivity data of the soil (CEa). There was a positive correlation ( $p < 0.05$ ) between ECa 0.5 m and 1.0 m from the soil and the IV's of the sugarcane plot from planting to the seventh month (223 days after planting - peak growth), and negative ( $p < 0.05$ ) from October 2018 through July 2019. Overall, there was similarity of spatial behavior and positive and negative correlation values when compared with the evaluated vegetation indices (NDVI and NDre2) and soil CEa. Soil ECa may be an indicator for differentiated managements in the same crop season.

**Keywords:** NDVI, NDre2, Spearman correlation, sugarcane.

**1. Introdução**

A relação entre índices de vegetação (IVs) obtidos por sensores remotos com parâmetros biofísicos das plantas e com atributos físicos do solo é usual na agricultura de precisão (AP) devido

ao enorme interesse na obtenção de dados precisos e rápidos para manejo assertivo de extensas áreas de culturas em tempo real, como a cana-de-açúcar. Entre os índices de vegetação, o NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*) ainda é o mais utilizado devido à facilidade de obtenção e por apresentar forte correlação linear com o crescimento das culturas e consequente monitoramento para manejo (Shiratsuchi et al., 2014). O NDre2 (*Normalized Difference Red-Edge 2*) ao utilizar-se da região espectral conhecida como red-edge (~680 nm e ~780 nm), também se mostra promissor na avaliação do teor de clorofila, assimilação de nitrogênio pelas plantas e índice de área foliar (Xie et al., 2018). Quanto aos parâmetros físicos de solo, a condutividade elétrica aparente (CEa), tecnologia agrícola já consolidada, apresenta elevada correlação com a maioria dos atributos do solo, e consequentemente, com a produtividade das culturas de plantas (Sanches et al., 2019). O mapeamento da CEa obtida por indução eletromagnética (IEM) é um eficaz método geofísico de avaliar a variabilidade espacial em talhões de cana e tem potencial para uso em grandes extensões de terra por ser útil na definição de zonas de manejo (Sanches et al., 2018). O objetivo do presente trabalho foi caracterizar o comportamento espectral e espacial de um canavial de ciclo ano e meio (safra 2018/2019), a partir do cálculo de IV's (NDVI e NDre2) correlacionando-os aos dados de CEa do solo.

## 2. Materiais e Métodos

A área de estudo é um canavial de primeiro corte de 15,7 hectares implantado em 02 de março de 2018 (cultivar Sweet 9005HP do CTC) pela Usina Santa Cruz, pertencente ao grupo São Martinho. A área localiza-se em Ibaté (SP) entre os paralelos 21°58'21"S e 21°58'19"S e o meridiano 48°05'O. A região, segundo a classificação climática de Koppen, pertence ao tipo climático Cwa, tropical de altitude de inverno seco (com temperaturas inferiores a 18 °C) e verão quente (com temperaturas superiores a 22 °C). A precipitação pluvial acumulada na região da safra de 2018/2019 (março 2018 a julho 2019) foi de 1.077,7 mm, segundo dados da Rede do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2019). Foram coletadas 18 imagens entre março de 2018 a julho de 2019 do sensor MSI/Sentinel-2A e 2B de reflectância no topo da atmosfera (nível 1C) e corrigidas para reflectância de superfície (nível 2A) por meio do algoritmo MAJA (*MACCS ATCOR Joint Algorithm*) na Plataforma Operacional dos Produtos Sentinel (PEPS, 2019). Para geração das imagens de NDVI e NDre2 utilizou-se o software ArcGis versão 10.6 respectivamente nas bandas B4 (Red) e B8 (NIR) ( $NDVI = (B8 - B4) / (B8 + B4)$ ) e nas bandas B5 (Red-edge 1) e B7 (Red-edge 3) ( $NDre2 = (B7 - B5) / (B7 + B5)$ ), conforme Fernández-Manso et al. (2016). Foram extraídos 1.383 pixels de NDVI (10 m x 10 m) e 375 pixels de NDre2 (20 m x 20 m), totalizando 1.758 pixels de referência (valores de N), respectivamente em cada data. As medidas de CEa do solo com IEM foram adquiridas na posição dipolo horizontal do sensor EM38-MK2<sup>®</sup> (Geonics, Ontario, Canada), em espaçamentos de bobina de 0,5 m e 1,0 m, em fevereiro de 2018, antes da subsolagem para o plantio (Speranza et al., 2018). As análises estatísticas dos IV's foram feitas com os programas R e o Origin 9.1 (OriginLab Co.). Para testar se os valores dos IVs apresentavam distribuição normal, foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk (Mangiafico, 2016). Como houve rejeição de normalidade dos dados, foram realizadas correlações de Spearman. Para a análise de dependência espacial fez-se a interpolação espacial com uso da krigagem ordinária (Vieira, 2000) e foram construídos mapas dos valores interpolados para dois agrupamentos em cada um dos IV's (1 = médias respectivas de valores de NDVI e NDre2 obtidos em 11 de março e 10 de abril de 2018; e agrupamento 3 = médias respectivas de valores de NDVI e NDre2 obtidos em 06 de novembro e 06 de dezembro de 2018 que são as datas do pico de crescimento da variedade de cana hiperprecoce).

## 3. Resultados e Discussão

Os resultados indicaram correlação significativa entre CEa do solo (0,5 m e 1,0 m) e os IV's em todas as análises realizadas (tabela 1), com exceção de duas datas (12/09/2018 e 10/04/2019). Os valores da correlação, embora considerados de moderados a muito fracos, tanto os positivos como os negativos foram estatisticamente significativos, não sendo atribuído ao acaso.

Tabela 1. Coeficiente de correlação entre os CEa do solo (0,5 m e 1,0 m) e os índices de vegetação NDVI e NDre2 em observações de fases do crescimento do canavial (18 datas).

	Dias após plantio	N	NDVI		N	NDre2		
			Spearman Corr.	Sig.		Spearman Corr.	Sig.	
CEa 0,5m	11/03/2018	9	1383	0,19739*	1,29E-13	375	0,23882*	2,91E-06
	10/04/2018	39	1383	0,15453*	7,63E-09	375	0,19047*	2,07E-04
	10/05/2018	69	1383	0,28991*	0	375	0,39336*	2,44E-15
	09/06/2018	99	1383	0,49398*	0	375	0,55301*	0
	09/07/2018	129	1383	0,39491*	0	375	0,43604*	0
	08/08/2018	159	1383	0,38174*	0	375	0,39242*	2,89E-15
	12/09/2018	194	1383	0,25019*	0	375	0,21579*	2,50E-05
	12/10/2018	223	1383	-0,08162*	0,00238	375	-0,1651*	0,00133
	06/11/2018	248	1383	-0,32444*	0	375	-0,40776*	2,22E-16
	06/12/2018	278	1383	-0,40827*	0	375	-0,5513*	0
	15/01/2019	317	1383	-0,4061*	0	375	-0,5063*	0
	09/02/2019	342	1383	-0,26954*	0	375	-0,24519*	1,54E-06
	06/03/2019	367	1383	-0,18722*	2,24643E-12	375	-0,20558*	6,05E-05
	10/04/2019	402	1383	0	0,52681	375	0	0,13044
	05/05/2019	427	1383	-0,07953*	0,00308	375	-0,26189*	2,68E-07
	09/06/2019	462	1383	-0,11403*	2,13289E-5	375	-0,28567*	1,79E-08
	09/07/2019	492	1383	-0,05748*	0,03255	375	-0,21412*	2,90E-05
	24/07/2019	507	1383	-0,07498*	0,00527	375	-0,23718*	3,42E-06
CEa 1,0m	11/03/2018	9	1383	0,17531*	5,21247E-11	375	0,16737*	0,00114
	10/04/2018	39	1383	0,16385*	8,83563E-10	375	0,12215*	0,01796
	10/05/2018	69	1383	0,22625*	0	375	0,26732*	1,48E-07
	09/06/2018	99	1383	0,3529*	0	375	0,39757*	1,11E-15
	09/07/2018	129	1383	0,24921*	0	375	0,28092*	3,14E-08
	08/08/2018	159	1383	0,24925*	0	375	0,2379*	3,18E-06
	12/09/2018	194	1383	0,14618*	4,74099E-8	375	0	0,06106
	12/10/2018	223	1383	-0,08551*	0,00146	375	-0,17736*	5,60E-04
	06/11/2018	248	1383	-0,25397*	0	375	-0,36074*	5,74E-13
	06/12/2018	278	1383	-0,26782*	0	375	-0,40584*	2,22E-16
	15/01/2019	317	1383	-0,28111*	0	375	-0,47321*	0
	09/02/2019	342	1383	-0,24681*	0	375	-0,3213*	1,88E-10
	06/03/2019	367	1383	-0,23861*	0	375	-0,34672*	4,95E-12
	10/04/2019	402	1383	0	0,51427	375	-0,24086*	2,38E-06
	05/05/2019	427	1383	-0,19127*	7,33635E-13	375	-0,3781*	3,44E-14
	09/06/2019	462	1383	-0,22013*	2,22045E-16	375	-0,40089*	6,66E-16
	09/07/2019	492	1383	-0,16551*	5,9257E-10	375	-0,33189*	4,30E-11
	24/07/2019	507	1383	-0,18459*	4,58167E-12	375	-0,3602*	6,25E-13

\* significativamente diferentes em nível de 0,05

A correlação entre as variáveis IV's e CEa foi positiva ( $p < 0,05$ ) de março até setembro de 2018, ou seja, os IV's tenderam a mover-se na mesma direção relativa (mas não necessariamente a uma taxa constante) até aproximadamente 223 dias após o plantio. A partir de outubro de 2018 a correlação de Spearman ficou negativa ( $p < 0,05$ ) até a data final da colheita da cana, ou seja,

indiretamente proporcional dos valores de CEa do solo em relação aos valores dos IV's. Isso indica que, os pixels onde os solos apresentaram CEa de menores valores, foram os que apresentaram maiores valores dos IV's. Na figura 1 vê-se a ascensão dos valores dos IV's e observam-se os valores máximos do NDVI e NDre2 em novembro e dezembro de 2018, para posterior declínio dos valores respectivos.

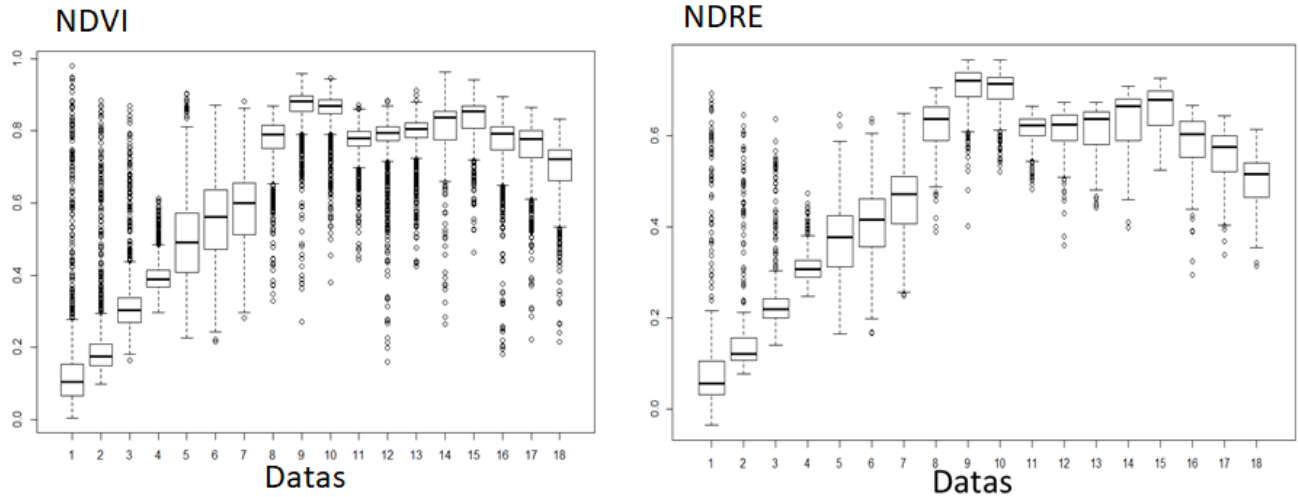


Figura 1. Boxplot de valores de NDVI e NDre2 nas 18 datas de observação (como tabela 1) dos IV's na lavoura de cana-de-açúcar em Ibaté (SP).

Apesar de a área experimental ser considerada pequena quando se trabalha com imagens satelitais, foi possível encontrar dependência espacial (figura 2) e a tendência de correlação espacial positiva em (A), (C), (E) e (F).

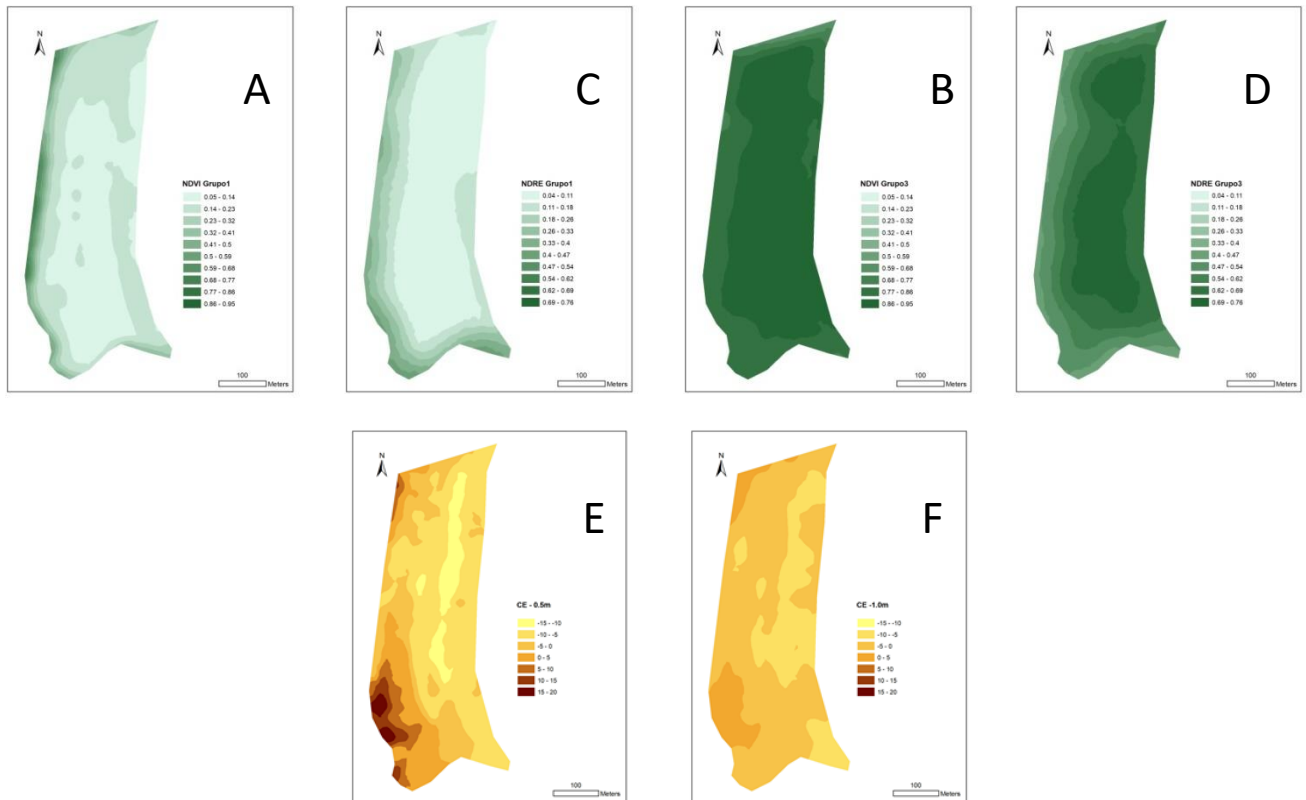


Figura 2. Mapas de contorno de valores interpolados espacialmente considerando: (A) NDVI (agrupamento 1); (B) NDVI (agrupamento 3); (C) NDre2 (agrupamento 1); (D) NDre2 (agrupamento 3); (E) CEa 0,5 m; (F) CEa 1,0 m.

E na figura 2 (B), (D), (E) e (F) a correlação espacial negativa. Portanto, há possibilidade de planejamento de tipos diferenciados de manejo cultural durante a mesma safra de cana.

#### 4. Conclusões

Houve correlação positiva dos IV's ( $p < 0,05$ ) da cana-de-açúcar até antes de seu pico de crescimento, e posteriormente a essa fase fenológica, houve correlação negativa ( $p < 0,05$ ) denotando que o CEa do solo pode ser um indicador de manejo diferenciado em duas fases da lavoura.

Tanto a CEa 0,5 m como a CEa 1,0 m apresentaram similaridade de comportamento espacial com os índices de vegetação avaliados (NDVI e NDre2).

As imagens do Sentinel-2 com suas 13 bandas e boa resolução temporal apresentaram potencial de aplicação quanto à observação do ciclo todo da planta e associação com os atributos da vegetação da cana-de-açúcar (IV's, IAF e outros) e a CEa do solo.

#### Agradecimentos

À Embrapa – Rede Agricultura de Precisão – e a Usina Santa Cruz por ceder a área de estudo e apoiar as atividades de campo.

#### Referências

- FERNÁNDEZ-MANSO, A.; FERNÁNDEZ-MANSO, O.; QUINTANO, C. Sentinel-2A red-edge spectral indices suitability for discriminating burn severity. In: **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**. N. 50, p. 170-175. 2016.
- INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. In: [http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/gera\\_serie\\_txt\\_mensal.php?&mRelEstacao=83726&btnProcesso=s](http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/gera_serie_txt_mensal.php?&mRelEstacao=83726&btnProcesso=s). Acesso: 5 ago. 2019.
- MANGIAFICO, S. S. Summary and analysis of extension program evaluation in R. New Brunswick, NJ, 2016. 713 p. Version 1.11.1. Disponível em: <[rcompanion.org/documents/RhandbookProgramEvaluation](http://rcompanion.org/documents/RhandbookProgramEvaluation)>. Acesso: 7 ago. 2019
- PEPS – Operating platform Sentinel products (CNES). In: <https://peps.cnes.fr>. Acesso em: 2 ago. 2019.
- SHIRATSUCHI, L. S.; BRANDÃO, Z. N.; VICTORIA, D. de C.; DUCATI, J. R.; OLIVEIRA, R. P. de; VILELA, M. de F. Sensoriamento remoto: conceitos básicos e aplicações na agricultura de precisão. Separata de: Agricultura de Precisão: Resultados de um Novo Olhar, Brasília, DF. Embrapa Cerrados, p.58-73, 2014.
- SANCHES, G. M.; MAGALHAES, PAULO S.G.; REMACRE, A. Z. ; FRANCO, H. C. J. Potential of apparent soil electrical conductivity to describe the soil pH and improve lime application in a clayey soil. **Soil & Tillage Research**. v. 175, p. 217-225, 2018.
- SANCHES, G. M.; PAULA, M.T.N.; DUFT, D.G.; MAGALHAES, P.S.G.; FRANCO, H.C.J. Precision production environments for sugarcane fields. **Scientia Agricola**. v. 76(1), p. 10-17, 2019.
- SPERANZA, E. A.; GREGO, C. R.; RODRIGUES, C. A. G.; SANCHES, G. M.; LUCHIARI JUNIOR, A. Caracterização da variabilidade espacial do solo a partir de medidas de condutividade elétrica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRICULTURA DE PRECISÃO, 2018, Curitiba. Construção dos dados na era da digitalização agrícola: anais. [S.l.]: AsBraAP, [2018]. p. 329-334. ConBAP 2018.
- VIEIRA, S. R. Geoestatística em estudos de variabilidade espacial do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, G. R. (Ed.). Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1, p. 1-54.
- XIE, Q.Y.; DASH, J.; HUANG, W.; PENG, D.; QIN, Q.; MORTIMER, H.; CASA, R.; PIGNATTI, S.; LANEVE, G.; PASCUCCI, S.; DONG, Y.; YE, H. Vegetation Indices Combining the Red and Red-Edge Spectral Information for Leaf Area Index Retrieval. **IEEE Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing**. 2018. DOI: 10.1109/JSTARS.2018.2813281.

**USO DE SMARTPHONES, APLICATIVOS E CORREÇÃO VIA INTERNET EM TEMPO REAL**David Rosalen<sup>1,\*</sup>, Gustavo Silva<sup>2</sup>, Renan Covre<sup>2</sup>, Lilia Morais<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unesp Jaboticabal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14.884-100, Jaboticabal, São Paulo

<sup>2</sup> AgroData Soluções Inteligentes, Rua Cezira Giovanoni Moretti, 955/502, 13.414-157, Piracicaba, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: david.rosalen@unesp.br

**Resumo:** A Lei 10.267, de 28-08-2001, teve como objetivo principal a criação do Cadastro Nacional de Imóveis Rurais (CNIR) e exige o georreferenciamento dos imóveis rurais. Também, o georreferenciamento é indispensável para a utilização das geotecnologias na Agricultura de Precisão. O posicionamento RTK é recomendado pela praticidade e qualidade. Neste, a correção é realizada via rádio ou via internet por NTRIP. Ressalta-se que, com o advento de *smartphones* há uma tendência da utilização desta tecnologia como coletor/processador de dados. O trabalho teve como objetivo avaliar a utilização da tecnologia RTK com correção via protocolo NTRIP com uso de *smartphone* para o georreferenciamento de feições e a utilização desta tecnologia na coleta de dados GNSS para pós-processamento via RBMC-PPP. Utilizou-se receptor GNSS Arrow Gold, controlado via *smartphone*. Avaliou-se a coleta para fins de pós-processamento RBMC-PPP e para mapeamento cadastral utilizando método RTK NTRIP. Os resultados indicaram que a tecnologia de receptores GNSS controlados por *smartphone* permitiram o pós-processamento via sistema RBMC-PPP. Com relação a utilização do posicionamento RTK com correção via protocolo NTRIP, tanto para cadastro de elementos viários, como para pontos cadastrais, os resultados indicaram que a tecnologia mostrou-se adequada, gerando resultados satisfatórios; portanto, podendo ser utilizada para essas finalidades.

**Palavras-chave:** GNSS, NTRIP, Georreferenciamento, Agricultura Digital.

**SMARTPHONE USE, APPLICATIONS, AND REAL-TIME INTERNET CORRECTION**

**Abstract:** Law 10.267, of 28/08/2001, had as its main objective the creation of the National Register of Rural Properties (CNIR) and requires the georeferencing of rural properties. Also, georeferencing is indispensable for the use of geotechnologies in precision agriculture. RTK positioning is recommended for practicality and quality. In this, the correction is performed via radio or Internet via NTRIP. It is noteworthy that with the advent of smartphones there is a tendency to use this technology as a data collector / processor. The objective of this work was to evaluate the use of RTK technology with correction via NTRIP protocol with smartphone use for feature georeferencing and the use of this technology to collect GNSS data for post processing via RBMC-PPP. GNSS Arrow Gold receiver, controlled via smartphone, was used. The collection was evaluated for RBMC-PPP post-processing purposes and for cadastral mapping using the RTK NTRIP method. The results indicated that smartphone-controlled GNSS receiver technology enabled post-processing via the RBMC-PPP system. Regarding the use of RTK positioning with correction via NTRIP protocol, both for registration of road elements and for cadastral points, the results indicated that the technology was adequate, generating satisfactory results; thus, it can be used for these purposes.

**Keywords:** GNSS, NTRIP, Georeferencing, Digital Farming.

## 1. Introdução

Conforme Rosalen (2014a), a Lei 10.267, de 28-08-2001, teve como objetivo principal a criação do Cadastro Nacional de Imóveis Rurais (CNIR) e exige o georreferenciamento dos imóveis rurais, sendo que os procedimentos técnicos para o georreferenciamento são descritos pela Norma Técnica para Georreferenciamento de Imóveis Rurais, terceira edição (INCRA, 2013a) e pelos Manuais Técnicos de Posicionamento (INCRA, 2013b) e de Limites e Confrontações (INCRA, 2013c). Destaca-se que o surgimento desta lei foi fundamental para a regularização cadastral rural brasileira, que possibilitou, inclusive, a eliminação de uma série de fraudes em termos de registro cartorário (ROSALEN, 2014b). Também, é importante ressaltar que o georreferenciamento não é somente fundamental para o cadastro de imóveis, como indicado em Rosalen et al. (2012), mas é indispensável para a utilização das geotecnologias na Agricultura de Precisão.

Conforme INCRA (2013b), há diferentes métodos de posicionamento GNSS (*Global Navigation Satellite System*), sendo o Posicionamento Relativo Cinemático em Tempo Real (*Real-time Kinematic - RTK*) altamente recomendado pela sua praticidade e qualidade posicional. Esse método exige que o processamento das correções seja realizado em tempo real e, para tanto, há a necessidade do estabelecimento da comunicação entre a antena receptora base e a antena receptora móvel (MONICO, 2008).

Essa comunicação pode ser realizada de forma analógica via rádio ou na forma digital pela internet através do protocolo NTRIP (*Networked Transport of RTCM via Internet Protocol - Transporte em Rede do RTCM via Protocolo de Internet*), sendo que este dispensa a necessidade de rádio e da base GNSS no momento da coleta de dados, mas exige que na área seja disponibilizado o sinal NTRIP, com disponibilizado pela RBMC-IP do IBGE (ROSALEN; AMAZONAS, 2019). Ressalta-se que com o advento de *smartphones* há uma tendência da utilização desta tecnologia como um coletor e processador de dados, através de aplicativos específicos, sendo seu uso de grande praticidade, como citado por Pinto et al. (2016).

Dentro deste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a utilização da tecnologia RTK com correção via protocolo NTRIP com uso de *smartphone*, em vez de coletores de dados usuais, para o georreferenciamento de feições, assim como a utilização desta tecnologia para coleta de dados GNSS para a finalidade de pós-processamento no sistema RBMC-PPP.

## 2. Material e Métodos

O trabalho foi realizado em Piracicaba e Jaboticabal, Estado de São Paulo. Utilizou-se o receptor GNSS Arrow Gold (Figura 1a), sendo este possível ser controlado via *smartphone*, tanto para a plataforma Android, como iOS. Este é capaz de rastrear três frequências (L1, L2 e L5) e as quatro constelações globais do Sistema GNSS (GPS, GLONASS, Galileu e BeiDou). Destaca-se que pode receber correções tanto via rádio, protocolo NTRIP e via satélite públicas do sistema SBAS (*Satellite-based Augmentation Systems*) e privada do sistema *Atlas Basic*. Também, o receptor pode trabalhar com diferentes aplicativos voltados para mapeamentos, tais como Google Maps, Esri Collector, AmigoCloud, MaptFast, GeoJot e iCMTGIS. A Figura 1 exibe o receptor utilizado.

Para gestão das observáveis GNSS foi utilizado o aplicativo EOS Tools Pro (Figura 1b) e o aplicativo SW Maps para registro das feições mapeadas. Também, foram utilizados o *software* QGIS e planilha eletrônica para manipulação dos dados.

Realizou-se as seguintes avaliações:

- 1) Teste da qualidade das observáveis GNSS coletadas para implantação de estação base via serviço IBGE-PPP:

Neste caso, os dados foram processados no sistema do IBGE-PPP e analisada as respectivas precisões, tais como definidas por Ghilani e Wolf (2006), ao nível de confiança de 68,3%, conforme recomendado por INCRA (2013a); o ponto foi ocupado por cerca de 10 min;

- 2) Teste de mapeamento cadastral de elementos viários:  
Neste caso, foi mapeado um pequeno trecho de um alinhamento viário urbano, comparando as discrepâncias geométricas entre os trechos de ida e de volta, Neste item o método adotado foi o RTK com correção via protocolo NTRIP;
- 3) Teste de mapeamento cadastral de pontos cadastrais:  
Neste foram mapeados pontos cadastrais, cujas coordenadas já eram conhecidos e dessa forma foi possível calcular a acurácia planialtimétrica (GHILANI; WOLF, 2006), considerando as coordenadas conhecidas como valores de referência. Como no item anterior, também o método adotado foi o RTK com correção via protocolo NTRIP.

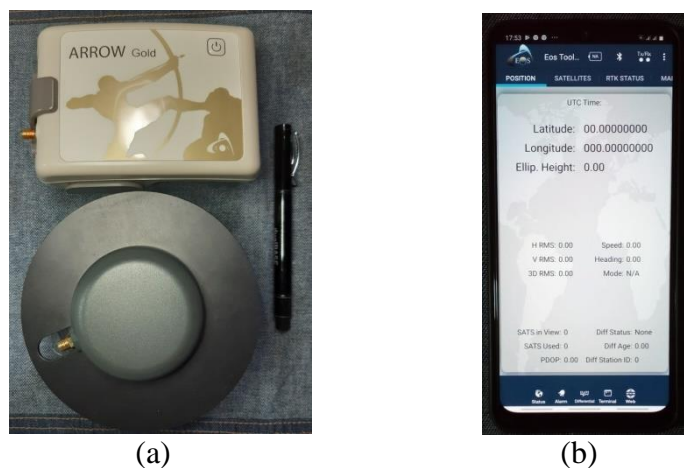


Figura 1. Conjunto receptor GNSS Arrow Gold (a) Tela do aplicativo EOS Tools Pro (b).

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Teste da qualidade das observáveis GNSS coletadas para implantação de Estação Base via serviço IBGE-PPP

Os resultados obtidos neste teste são exibidos na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados dos valores obtidos no Sistema RBMC-PPP a partir das observáveis coletadas.

Coordenada	Valor (m) <sup>#</sup>
Este	229.585,068 ± 0,090
Norte	7.485.884,386 ± 0,067
Altitude elipsoidal	543,94 ± 0,160
Precisão Planimétrica	0,112

<sup>#</sup> Sistema de Referência SIRGAS 2000, Projeção UTM, Meridiano Central -45°, Hemisfério Sul.

As precisões alcançadas das coordenadas planimétricas têm valores no ordem de centímetros, indicando bons resultados frente ao pequeno tempo de ocupação. Pinto et al. (2015) determinaram o Erro Médio Quadrático (EMQ), utilizando receptor GNSS Trimble R6 e tempo de ocupação de 3 min, o valor de (0,214 ± 0,130)m para coordenadas Norte e (0,214 ± 0,335)m para coordenadas Este. Já Alves et al. com uma hora de ocupação encontraram EMQ de 0,068 m para a componente Norte e 0,076 m para a componente Este. Dessa forma o tempo de ocupação do ponto é uma variável importante a obtenção de melhores qualidades nessa modalidade de posicionamento, como indicam Camargo e Rosalen (2018).

#### 3.2. Teste de mapeamento de elementos viários

O erro médio encontrado entre o trajeto de ida e o de volta ficou em torno de 5 cm. Resultado considerado satisfatório dentro das condições experimentais. Destaca-se que Carvalho et al. (2015), encontraram o valor de EMQ de (0,44 ± 0,02)m, quando compararam o Posicionamento



por Ponto Preciso e o Posicionamento Relativo pós-processado, em mapeamento viário.

### 3.3. Teste de mapeamento de pontos cadastrais

A Tabela 2 exibe os resultados do teste de mapeamento de pontos cadastrados.

Tabela 2. Acurácia média obtidas no mapeamento de pontos cadastrais, método RTK NTRIP.

Acurácia	Valor (m)
Este	0,008
Norte	0,012
Altitude elipsoidal	0,044
Planimétrica	0,015

A Tabela 2 indica valor de acurácia melhor para a componente E das coordenadas planimétricas; porém, a acurácia posicional teve o valor de 1,5 cm. Esse resultado pode ser considerado satisfatório, pois encontra-se dentro da qualidade esperada no posicionamento GNSS relativo. Em termos altimétricos, os resultados indicaram acurácia inferior, com valor de 4,4 cm. Mesmo assim, tanto em plani com em altimetria, os resultados encontram-se dentro das prescrições da Norma Técnica de Georreferenciamento de Imóveis Rurais (INCRA, 2013a, 2013b, 2013c).

## 4. Conclusões

Os resultados indicaram que a tecnologia de receptores GNSS controlados por *smartphone* permitiram o pós-processamento via sistema RBMC-PPP, com qualidade similar a receptores convencionais.

Com relação a utilização do posicionamento RTK com correção via protocolo NTRIP, tanto para cadastro de elementos viários, como para pontos cadastrais, os resultados indicaram que a tecnologia mostrou-se adequada, gerando resultados satisfatórios; portanto, podendo ser utilizada para essas finalidades.

## Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio da empresa AgroData Soluções Inteligentes para o desenvolvimento do trabalho.

## Referências

- ALVEZ, C. M. C. et al. Avaliação da qualidade do posicionamento por Ponto Preciso na sua forma online. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS GEODÉSICAS E TECNOLOGIAS DA GEOINFORMAÇÃO, 3., 2010, Recife. Anais... Recife: UFPE.
- CAMARGO, E. B.; ROSALEN, D. L. Posicionamento GNSS por ponto preciso para fins de georreferenciamento de imóveis rurais. Regent. 2018, vol.3, n.1, pp. 1-15. ISSN 2447-8415.
- GHILANI, C. D.; WOLF, P. R. Adjustment computations: Spatial data analysis. New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 4 ed., 2006. 611 p.
- INCRA. INSTITUTO NACIONAL DE COLONIZAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA. Norma técnica para georreferenciamento de imóveis rurais: aplicada à Lei 10.267. 3. ed. Brasília: 2013a.
- INCRA. INSTITUTO NACIONAL DE COLONIZAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA. Manual técnico de posicionamento: georreferenciamento de imóveis rurais. Brasília: 2013b. 33 p.
- INCRA. INSTITUTO NACIONAL DE COLONIZAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA. Manual técnico de limites e confrontações: georreferenciamento de imóveis rurais. Brasília: 2013c. 24 p. 4 p.
- MONICO, J. F. G. Posicionamento pelo GNSS: descrição, fundamentos e aplicações. 2. ed. São Paulo: Unesp, 2008. 476p.
- PINTO, R. C. S.; ROSALEN, D. L.; ZERBATO, C. Mapeamento de glebas de terra utilizando-se posicionamento GNSS por ponto simples e software freeware In: CONGRESSO BRASILEIRO

- DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 45., 2016, Florianópolis. Anais.... Jaboticabal: SBEA, 2016.
- ROSALEN, D. L. Influence of distance, geometry and number stations of local geodetic networks for purpose of georeferencing of rural properties. Engenharia Agrícola. 2014a, vol.34, n.2, pp. 311-321. ISSN 1809-4430.
- ROSALEN, D. L. The impact of the law 10,267/2001 in the brazilian rural registration. Engenharia Agrícola. 2014b, vol.34, n.2, pp. 372-384. ISSN 1809-4430.
- ROSALEN, D. L.; MUNHOZ, J. V. C.; MARDEGAN, C. O georreferenciamento de imóveis rurais no município de Jaboticabal-SP. Revista Ciência em Extensão, v. 8, p. 42-55, 2012.
- ROSALEN, D. L.; AMAZONAS, D. M. Mapeamento com aeronave remotamente pilotada de navegação precisa em tempo real. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 27., 2019, Santos. Anais... Santos: INPE.
- PINTO, R. C. S.; ROSALEN, D. L.; CARVALHO, J. A. L. Levantamento viário utilizando o posicionamento GNSS por ponto preciso In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 27., 2015, Jaboticabal. Anais.... São Paulo: UNESP PROPE, 2015.
- CARVALHO, J. A. L.; ROSALEN, D. L.; PINTO, R. C. S. Posicionamento GNSS por ponto preciso para fins de georreferenciamento In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 27., 2015, Jaboticabal. Anais.... São Paulo: UNESP PROPE, 2015.

**ESTIMATIVA DE TEORES FOLIARES DE CLOROFILA EM VINHEDO POR MEIO DE CLOROFILÔMETRO PORTÁTIL**

T. M. M. Silva<sup>1</sup>, B. R. S. Costa<sup>1</sup>, H. Oldoni<sup>1</sup>, A. M. Salviano<sup>2</sup>, L. H. Bassoi<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup> FCA UNESP, Departamento de Engenharia Rural, R. José Barbosa de Barros, 1780, 18610-034, Botucatu, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa Semiárido, BR 428 km 152, Caixa Postal 23, 56302-970, Petrolina, Pernambuco

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, R. XV de Novembro, 1452, Caixa Postal 741, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: [luis.bassoi@embrapa.br](mailto:luis.bassoi@embrapa.br)

**Resumo:** O uso de equipamentos ou sensores para a medida de atributos das plantas pode auxiliar a tomada de decisão quanto à realização de uma prática de manejo agrícola, desde que tal medida realizada seja representativa do atributo em questão. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a utilização de um equipamento portátil (ClorofiLOG CFL 1030) para a estimativa dos teores de clorofila *a*, *b* e total em folhas de videira cv. Chardonnay, tendo-se como referência a determinação dos teores desses pigmentos no tecido vegetal em laboratório, por meio de espectrofotometria. O trabalho foi desenvolvido em um vinhedo irrigado por gotejamento, localizados no município de Espirito Santo do Pinhal, São Paulo. Observou-se um bom ajuste entre os índices relativos de clorofila fornecidos pelo equipamento e os conteúdos de clorofila *a*, *b* e total determinados em laboratório, viabilizando assim o uso do equipamento no vinhedo.

**Palavras-chave:** pigmento fotossintetizante, índice de vegetação por diferença normalizada, agricultura de precisão.

**ESTIMATION OF LEAF CHLOROPHYLL CONTENTS IN VINEYARD USING HANDHELD CHLOROPHYLL METER**

**Abstract:** The use of equipment or sensors for measuring plant attributes may be helpful in order to the decision making regarding the implementation of an agricultural management practice, since such measures be representative of the attribute. Thus, the present work aimed to evaluate the use of a portable equipment ClorofiLOG CFL 1030 to estimate chlorophyll *a*, *b*, and total contents in grapevine cv. Chardonnay leaves, having as reference the determination of these pigment contents in the vegetal tissue in laboratory, by spectrophotometry. The work was carried out in a drip irrigated vineyard, located in Espirito Santo do Pinhal, state of São Paulo, Brazil. A good fit was observed between the relative chlorophyll indices provided by the equipment meter and the chlorophyll *a*, *b*, and total contents determined in the laboratory, thus enabling the use of this equipment in the vineyard.

**Keywords:** photosynthetic pigment, normalized difference vegetation index, precision agriculture

**1. Introdução**

O uso de equipamentos ou sensores para a medida de atributos das plantas pode auxiliar a tomada de decisão quanto à realização de uma prática de manejo agrícola, desde que tal medida realizada seja representativa do atributo em questão. O uso desses equipamentos e sensores podem ainda viabilizar um manejo diferenciado do vinhedo, dentro do contexto da viticultura de precisão, e contribuir para o aumento da eficiência de produção (OZDEMIR et al., 2017).

A análise foliar por meio de equipamentos portáteis, como o clorofilômetro, permite a determinação, de forma rápida e não destrutiva, dos teores de clorofilas *a*, *b* e total (COELHO et al., 2018). Esses pigmentos verdes são essenciais para conversão da radiação luminosa em energia

química, estando relacionados com a eficiência fotossintética das plantas, e conseqüentemente com seu crescimento, produtividade e adaptabilidade às condições ambientais. Esse equipamento tem sido utilizado para a avaliação da resposta da planta a diferentes tipos de estresse bióticos e abióticos (DURAES et al., 2004; SANTOS et al., 2013; SILVA et al., 2014); e do estado nutricional das plantas (MORAIS et al., 2011), principalmente em relação ao N (SEGATTO et al., 2017; CARVALHO et al., 2012; FRANÇA et al., 2011) já que 50-70% do teor total desse nutriente nas folhas fazem parte de enzimas associadas aos cloroplastos (ZOTARELLI et al., 2002), participando da síntese de clorofila. A informação obtida com o uso do equipamento pode possibilitar o manejo mais eficiente da adubação nitrogenada.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar a relação existente entre os índices relativos de clorofila *a*, *b* e total obtidos pelo ClorofiLOG CFL 1030 e os teores de clorofila *a*, *b* e total determinados em laboratório por meio de espectrofotometria de absorção molecular em tecido foliar de videira.

## 2. Materiais e Métodos

O estudo foi desenvolvido no município de Espírito Santo do Pinhal, São Paulo (22° 10' 49,1" S, 46° 44' 28,4" O e altitude média de 875 m), em um vinhedo com a cv. Chardonnay enxertada sobre o porta-enxerto Paulsen 1103 (subdividido em duas áreas contíguas que juntas somam 1,1 ha), implantado em 2008, com espaçamento de 2,5 m (entre fileiras) por 1,0 m (entre plantas), e irrigado por gotejamento. O sistema de sustentação de plantas utilizado é o do tipo espaldeira, com condução das videiras em cordão Royat unilateral e orientação Leste-Oeste. O solo do vinhedo é classificado como Cambissolo Háplico Tb, A moderado, e Neossolo Regolítico, A húmico, ambos eutróficos típicos, de textura argilosa com cascalho (OLDONI, 2019).

A distribuição espacial do índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) do vinhedo, realizada nos ciclos de produção de 2017 e 2018, relacionou-se diretamente com o vigor vegetativo das videiras (OLDONI, 2019), e orientou os locais para a coleta de dados nos ciclos de produção de 2019, que teve a sua poda em 7 de janeiro e a colheita em 17 de maio (ciclo de produção de 130 dias). Em 7 de fevereiro, 22 de fevereiro, 21 de março e 22 de abril, correspondentes a 31, 46, 73 e 105 dias após a poda (dap), foram realizadas leituras com o medidor portátil de clorofila ClorofiLOG CFL 1030 (Falker, Porto Alegre, Brasil) em 40 plantas por dia. Em cada planta foram selecionadas duas folhas totalmente expandidas, sem o indício do ataque de pragas ou de doenças, para a realização da medida em dois pontos na face adaxial de cada folha. Posteriormente, foram coletados de uma folha de cada planta dois discos com diâmetro de 1,55 cm, os quais foram armazenados em tubos cônicos de plástico contendo 2 mL de etanol 96% (v.v<sup>-1</sup>) e armazenados em ambiente com baixa luminosidade e temperatura.

Para determinação do conteúdo de clorofila total (*a+b*) os discos coletados foram macerados em 2 mL de etanol 96% (v.v<sup>-1</sup>) em almofariz, sob condições de baixa luminosidade, conforme descrito em Aidar (2010). Os extratos obtidos foram armazenados em tubos cônicos e centrifugados a 3000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro de micro placa Biotek Epoch2 nos comprimentos de onda 649 e 665 nm. Para a quantificação dos pigmentos foram empregados os coeficientes de extinção, segundo Lichtenthaler e Wellburn (1983), sendo determinados com base no peso seco das amostras e expressos em  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ , considerando o volume de etanol utilizado na extração.

Os índices relativos de clorofila, obtidos com o clorofilômetro, foram relacionados com os teores absolutos de clorofila extraídos em laboratório, mediante análise de regressão. Os ajustes da curva foram realizados em função linear conforme o coeficiente de determinação por meio do programa Microsoft Excel® 2016.

## 3. Resultados e Discussão

Os ajustes entre os índices relativos de clorofila, fornecidos pelo clorofilômetro, e os respectivos teores de clorofila total (Figura 1A), *a* (Figura 1B) e *b* (Figura 1C), determinados por

espectrofotometria, apresentaram, respectivamente, coeficientes de determinação ( $R^2$ ) de 0,834, 0,789 e 0,758, e coeficientes de correlação  $r$  de 0,913, 0,888 e 0,871.

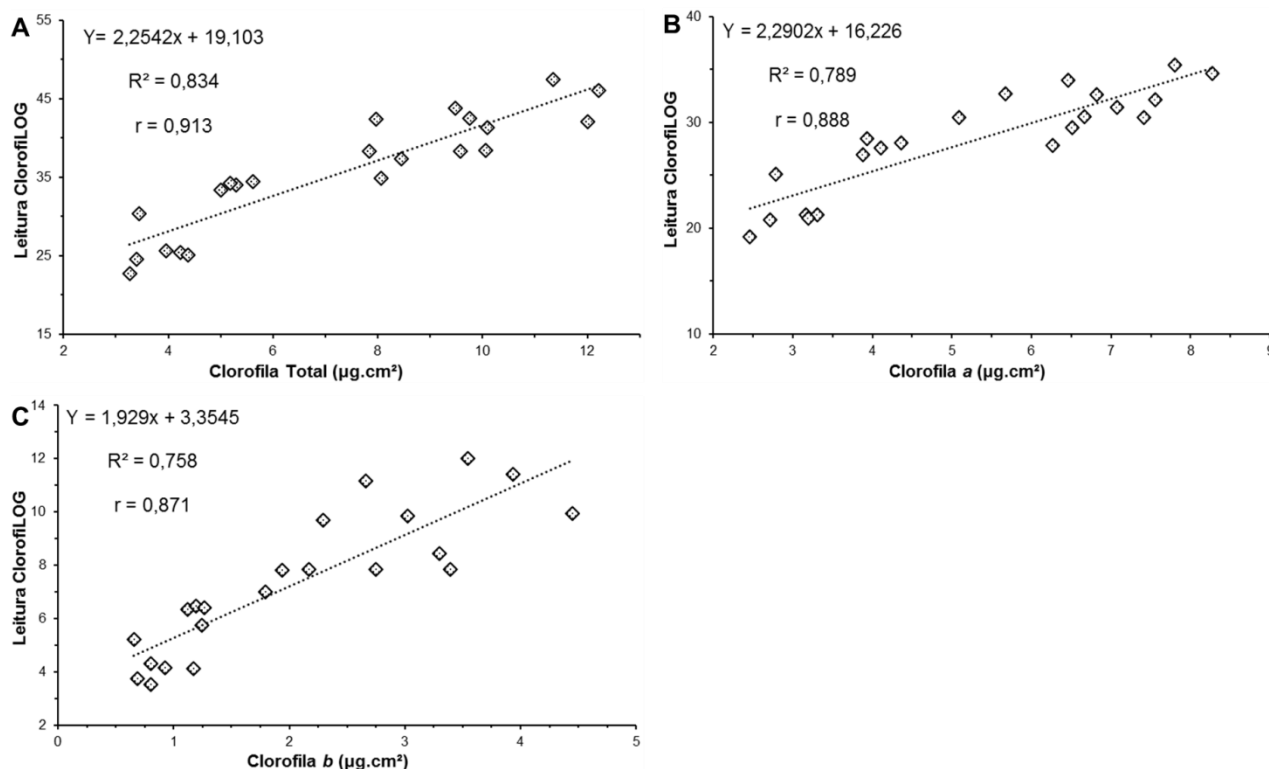


Figura 1. Equações de ajuste entre os índices relativos de clorofila obtidos pelo equipamento ClorofiLOG CFL 1030 e os conteúdos de clorofila total (A),  $a$  (B) e  $b$  (C) determinados por meio de espectrofotometria.

O valor de  $R^2$  indica quanto o modelo (equação) é capaz de explicar os dados observados, ou seja, a medida do equipamento representa 83,4%, 78,9% e 75,8% dos valores determinados em laboratório da clorofila total,  $a$  e  $b$ , respectivamente. O valor de  $r$  indica que existe uma associação positiva, ou seja, os índices relativos fornecidos pelo equipamento aumentam com o aumento dos teores de clorofila, e pela magnitude dos valores, tal associação pode ser considerada como forte para as três situações.

Para a cultura do algodoeiro herbáceo, Neves et al. (2005) determinaram equações lineares para a associação da medida do clorofilômetro SPAD-502 (Minolta, Osaka, Japan) com os pigmentos fotossintetizantes, com valores de  $r$  de 0,82 (clorofila  $a$ ), 0,48 (clorofila  $b$ ) e 0,67 (clorofila total). Para a cultura do gergelim, Rigon et al. (2012) determinaram equações não lineares (quadráticas) para a calibração do ClorofiLOG CFL 1030 quanto aos teores de clorofila  $a$ ,  $b$  e total com valores de  $R^2$  de 0,98 para os três casos. Com o mesmo equipamento, e para a cultura do algodão, Brito et al. (2011) verificaram valores de  $R^2$  de 0,91 (clorofila  $a$ ), 0,80 (clorofila  $b$ ) e 0,91 (clorofila total). Esses mesmos autores também relataram um valor de  $r$  igual a 0,99 ao comparar os índices relativos de clorofila fornecidos pelo SPAD-502 e ClorofiLOG CFL1030. Para a cultura da canola, Rigon et al. (2017) determinaram equações quadráticas para o ajuste da medida do ClorofiLOG com os teores de clorofila  $a$  ( $R^2$  igual a 0,95), clorofila  $b$  ( $R^2$  igual a 0,91) e clorofila total ( $R^2$  igual a 0,95). Padilla et al. (2018) encontraram um modelo linear com valor de  $R^2$  igual a 0,93 para ajustar as medidas feitas com o SPAD-502 com o teor de clorofila total em pimentão. Taskos et al. (2014) apresentaram equações lineares de calibração do clorofilômetro SPAD-502 com o teor de clorofila total com valores de  $R^2$  que variaram de acordo com o estágio fenológico da videira e com a cultivar de videira (pegamento do fruto, 0,79 e 0,64; cacho fechado, 0,73 e 0,46; início da maturação, 0,25 e 0,14; maturidade, 0,57 e 0,20, para as cv. Cabernet Sauvignon e

Xinovaro). Tais resultados indicam a necessidade de calibração do clorofilômetro para cada espécie e cultivar na qual o equipamento será utilizado.

#### 4. Conclusões

Os índices relativos de clorofila em folhas de videira cv. Chardonnay, fornecidos pelo medidor portátil ClorofiLOG CFL 1030, apresentaram ajustes satisfatórios (equações de calibração) com os teores de clorofilas *a*, *b* e total, determinados por espectrofotometria em laboratório, o que viabiliza o seu emprego na estimativa do conteúdo foliar de clorofila no vinhedo.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo e financiamento ao projeto; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo; e à Vinícola Guaspari, pela disponibilização de área e apoio para realização do trabalho.

#### Referências

- AIDAR, S. T. Implicações da maturação ou perda da clorofila na tolerância à dessecação de tecidos vegetativos de *Anemia flexuosa* (Schizaeaceae) e *Pleurostima purpúrea* (Velloziaceae). 171 p. Tese (Doutorado em Ciências - Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2010.
- BRITO, G. G.; BRANDÃO, Z. N.; SILVA, V. B.; FRANKLIN, M. S.; SILVA, D. A. Non-destructive analysis of photosynthetic pigments in cotton plants. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.33, p.671-678, 2011.
- CARVALHO, M. A. F.; SILVEIRA, P. M.; SANTOS, A. B. Utilização do clorofilômetro para racionalização da adubação nitrogenada nas culturas do arroz e do feijoeiro. Santo Antônio de Goiás: Embrapa, 2012. 14p.
- COELHO, A. P., LEAL, F. T.; FILLA, V. A.; DALRI, A. B.; FARIA, R. T. Estimativa da produtividade de grãos da aveia-branca cultivada sob níveis de irrigação utilizando clorofilômetro portátil. *Revista da Faculdade de Educação e Meio Ambiente*, v. 9, n. 2, p. 662-667, 2018.
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHAES, P. C.; MARRIEL, I. E.; GAMA, E. E. G. e; CASELA, C. R.; OLIVEIRA, A. C. de; CANTAO, F. R. Caracterização de genótipos para uso e eficiência de nitrogênio em milho e influência da adubação nitrogenada sobre a incidência e severidade da mancha foliar da *Phaeosphaeria maydis*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 8 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 53).
- FRANÇA, S.; MIELNICZUK, J.; ROSA, L.M.G.; BERGAMASCHI, H.; BERGONCI, J.I. Nitrogênio disponível ao milho: crescimento, absorção e rendimento de grãos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*, v.15, n.11, 2011.
- MORAIS, R.R. et al. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de macro e micronutrientes em folíolos de dendezeiro em sistema agroflorestal. In: VII Congresso Brasileiro de Sistemas Agroflorestais. Anais... Belém: Sociedade Brasileira de Sistemas Agroflorestais, 2011.
- NEVES, O. S. C.; CARVALHO, J. G.; MARTINS, F. A. D.; PÁDUA, T. R. P.; PINHO, P. J. Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, nitrogênio, enxofre, ferro e manganês do algodoeiro herbáceo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 40, n. 5, p. 517-521, 2005.
- OLDONI, H. Zonas homogêneas de atributos de planta e do solo em vinhedo irrigado. 106 p. Tese (Doutorado em Agronomia (Irrigação e Drenagem) - Universidade Estadual Paulista, Unesp, Botucatu, 2019.
- OZDEMIR, G.; SESSIZ, A.; PEKITKAN, F.G. Precision viticulture tools to production of high quality grapes. *Series B, Horticulture*. v.61, p.209-218, 2017.

- PADILLA, F. M.; SOUZA, R.; PEÑA-FLEITAS, M. T.; GALLARDO, M.; GIMÉNEZ, C.; THOMPSON, R. B. Different responses of various chlorophyll meters to increasing nitrogen supply in sweet pepper. *Frontiers in Plant Science*, v.9, p.1-14, 2018.
- RIGON, C. A. G.; ZANATTA, M. M.; SILVESTRE, L. O.; BORDIN, R.; SORIANI, H. H.; SILVA, V. R. da; TOMM, G. O. Determinação de clorofilas em canola através de método não destrutivo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE CANOLA, 1., 2017, Passo Fundo. Anais... Brasília, DF: Embrapa, 2017.
- RIGON, J. P. G.; BELTRÃO, N. E. de M.; CAPUANI, S. BRITO NETO, J. F. & SILVA, F. V. F. Análise não destrutiva de pigmentos fotossintéticos em folhas de gergelim. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v.16, n.3, p.258–261, 2012.
- SANTOS, A. B. dos; FAGERIA, N. K.; FILIPPI, M. C. C. de; BOTELHO, T. H. A.; CALDAS, P. P. de C.; ALVES, K. D. Desempenho do arroz irrigado afetado pelo manejo de nitrogênio monitorado com o uso do clorofilômetro e fungicidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 8., 2013, Santa Maria. Anais. Santa Maria: UFSM; Porto Alegre: Sosbai, 2013. v.2. p. 1264-1267.
- SEGATTO, C. et al. Relação da leitura do clorofilômetro com o rendimento da cultura do milho em diferentes níveis de suprimento de nitrogênio *Sci. Agrar.* v. 16, n. 2, abr./jun., p. 253-259, 2017
- SILVA, M. A.; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. S.; RHEIN, A. F. L. Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. *Bioscience Journal*, v. 30, n. 1, p. 173-181, 2014.
- TASKOS, D. G.; KOUNDOURAS, S.; STAMATIADIS, S.; ZIOZIOU, E.; NIKOLAOU, N. KARAKIOULAKIS, K.; THEODOROU, N. Using active canopy sensors and chlorophyll meters to estimate grapevine nitrogen status and productivity. *Precision Agriculture*, v. 16, p. 77-98, 2015.

**ESTIMATIVA DOS TEORES FOLIARES DE NITROGÊNIO EM VINHEDO POR MEIO DE CLOROFILÔMETRO PORTÁTIL**T. M. M. Silva<sup>1</sup>, B. R. S. Costa<sup>1</sup>, H. Oldoni<sup>1</sup>, A. M. Salviano<sup>2</sup>, L. H. Bassoi<sup>3,\*</sup><sup>1</sup> FCA UNESP, Departamento de Engenharia Rural, R. José Barbosa de Barros, 1780, 18610-034, Botucatu, São Paulo<sup>2</sup> Embrapa Semiárido, BR 428 km 152, Caixa Postal 23, 56302-970, Petrolina, Pernambuco<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, R. XV de Novembro, 1452, Caixa Postal 741, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: luis.bassoi@embrapa.br

**Resumo:** O estado nutricional das plantas de videira de vinho em relação ao N é um dos fatores importantes para a produtividade e qualidade das uvas para vinificação. No entanto, o manejo da adubação nitrogenada pode apresentar baixa eficiência, com possibilidade de perdas. Considerando que o N faz parte da estrutura da molécula de clorofila, e que é necessário realizar o manejo desse nutriente nos vinhedos de modo eficiente, o presente trabalho foi desenvolvido em um vinhedo da cv. Chardonnay em Espírito Santo do Pinhal, São Paulo, para analisar a relação entre os índices relativos de clorofila *a*, *b* e total nas folhas, obtidos em campo pelo medidor portátil ClorofiLOG CFL 1030, e os teores de nitrogênio presentes nas mesmas folhas, determinados em laboratório por meio de análise elementar. A relação entre as medidas do equipamento e os teores foliares de N ocorreu por meio de equações lineares, com correlação positiva e forte, o que torna viável a determinação de forma indireta dos teores foliares de nitrogênio por meio do uso do clorofilômetro no vinhedo.

**Palavras-chave:** índice relativo de clorofila, videira de vinho, agricultura de precisão.

**ESTIMATION OF LEAF NITROGEN CONTENTS IN VINEYARD BY USING HANDHELD CHLOROPHYLL METER**

**Abstract:** The nutritional status of wine vines in relation to N is one of the important factors for the yield and quality of grapes for winemaking. However, nitrogen fertilization management has low efficiency and potential losses. Considering that N is part of the structure of the chlorophyll molecule and that it is necessary to make the management of this nutrient in an efficient way, the present work aimed to analyze in a 'Chardonnay' vineyard at Espírito Santo do Pinhal, state of São Paulo, Brazil, the relationship between the leaf relative indices of total, *a*, and *b* chlorophyll obtained in the field by a ClorofiLOG CFL 1030 handheld meter, and the leaf nitrogen contents determined in laboratory by elemental analysis. The good relationship between the equipment measuring and the leaf N contents occurred through linear equations, with positive and strong correlation, making possible the indirect determination of the leaf N contents by using chlorophyll meter in the vineyard.

**Keywords:** relative chlorophyll index, wine vine, precision agriculture.

**1. Introdução**

O nitrogênio (N), um dos principais nutrientes exigidos pelas plantas, influencia processos metabólicos envolvidos no crescimento, altera a distribuição de fotoassimilados entre as diferentes partes da planta e está presente na composição da molécula de clorofila (TAIZ et al., 2017). Assim, as medidas de clorofila apresentam forte correlação com os teores foliares de N, possibilitando o uso de clorofilômetros portáteis na realização de diagnoses de N na planta (WOLF & FLOSS, 2008). Silva et al. (2014) e Godoy et al. (2007) observaram forte correlação entre as leituras do clorofilômetro com a clorofila determinada e com as doses de N aplicadas.



O N é um dos elementos mais extraídos pela videira, e a sua deficiência causa amarelecimento das folhas, baixo vigor das plantas, diminui a produtividade e a qualidade da uva para processamento (MIELE et al., 2009). Além disso, devido à complexa dinâmica do nitrogênio no solo, o critério para definição da quantidade deste nutriente a ser aplicada nas culturas é baseado em curvas de resposta da cultura e/ou nos teores foliares do nutriente (FAGERIA et al., 2015). Mesmo assim, se esse nutriente é aplicado em uma única época predeterminada, desconsiderando as fases de maior demanda nutricional da cultura, proporciona menor eficiência no uso dos fertilizantes, acarretando necessidade de aplicação de maiores doses, redução do lucro pelo agricultor e maiores riscos de poluição ambiental.

Dessa forma, a utilização de clorofilômetro portátil para a avaliação do estado nutricional das plantas quanto ao teor de N é rápida, precisa, de baixo custo e não destrutiva. Pode ainda permitir o ajuste rápido de doses de N a serem aplicadas, e o monitoramento do teor foliar de N ao longo da área de cultivo, para avaliar a sua variabilidade espacial dentro do contexto da agricultura de precisão.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar a relação existente entre os índices relativos de clorofila *a*, *b* e total obtidos pelo medidor portátil de clorofila ClorofiLOG CFL 1030 e os teores de N presentes nas folhas de videiras de vinho determinados em laboratório por meio da técnica de análise elementar.

## 2. Materiais e Métodos

O estudo foi desenvolvido no município de Espírito Santo do Pinhal, São Paulo (22° 10' 49,1" S, 46° 44' 28,4" O e altitude média de 875 m), em um vinhedo com a cv. Chardonnay enxertada sobre o porta-enxerto Paulsen 1103 (subdividido em duas áreas contíguas que juntas somam 1,1 ha), implantado em 2008, com espaçamento de 2,5 m (entre fileiras) por 1,0 m (entre plantas), e irrigado por gotejamento. O sistema de sustentação de plantas utilizado é o do tipo espaldeira, com condução das videiras em cordão Royat unilateral e orientação Leste-Oeste. O solo do vinhedo é classificado como Cambissolo Háplico Tb, A moderado, e Neossolo Regolítico, A húmico, ambos eutróficos típicos, de textura argilosa com cascalho (OLDONI, 2019).

A distribuição espacial do índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) do vinhedo, realizada nos ciclos de produção de 2017 e 2018, relacionou-se diretamente com o vigor vegetativo das videiras (OLDONI, 2019), e orientou os locais para a coleta de dados nos ciclos de produção de 2019, que teve a sua poda em 7 de janeiro e a colheita em 17 de maio (ciclo de produção de 130 dias). Em 7 de fevereiro, 22 de fevereiro, 21 de março e 22 de abril, correspondentes a 31, 46, 73 e 105 dias após a poda (dap), foram realizadas leituras com o medidor portátil de clorofila ClorofiLOG CFL 1030 (Falker, Porto Alegre, Brasil) em 40 plantas por dia.

Duas folhas por planta foram coletadas, secas em estufa de circulação fechada a 65°C e moídas em moinho de facas e peneiradas em malha com diâmetro inferior a 2 mm. As amostras foram pesadas em balança analítica (0,00001g) e alíquotas de aproximadamente 0,0095g foram encapsuladas em folhas de estanho. Na determinação dos teores de nitrogênio foliar (NF) utilizou-se um analisador elementar CHN (carbono, hidrogênio e nitrogênio) modelo Perkin-Elmer CHN 2400, com metodologia descrita por Merlini et al. (2017). Durante o processo de análise as amostras foram decompostas em meio a alta temperatura em células ricas com oxigênio gerando gases que foram arrastados pelo gás hélio até o condutor de condutividade térmica do equipamento, realizando assim a determinação dos teores de nitrogênio em suas respectivas porcentagens com o limite de detecção de <0,03%.

Os dados foram submetidos à análise de regressão linear utilizando-se o índice relativo de clorofilas *a*, *b* e total como variáveis dependentes, e o teor foliar de N como independente. Os ajustes das curvas foram realizados por meio do programa Microsoft Excel® 2016.

## 3. Resultados e Discussão

Observa-se um ajuste de equação linear entre os teores foliares de N e os índices relativos de

clorofila total, *a* e *b* determinadas por meio do clorofilômetro (Figura 1). Para as três variáveis avaliadas (clorofila total, *a* e *b*), a correlação foi considerada como forte e positiva. Das 40 plantas analisadas em cada data de coleta, foram consideradas 22 devido à retirada de outliers.

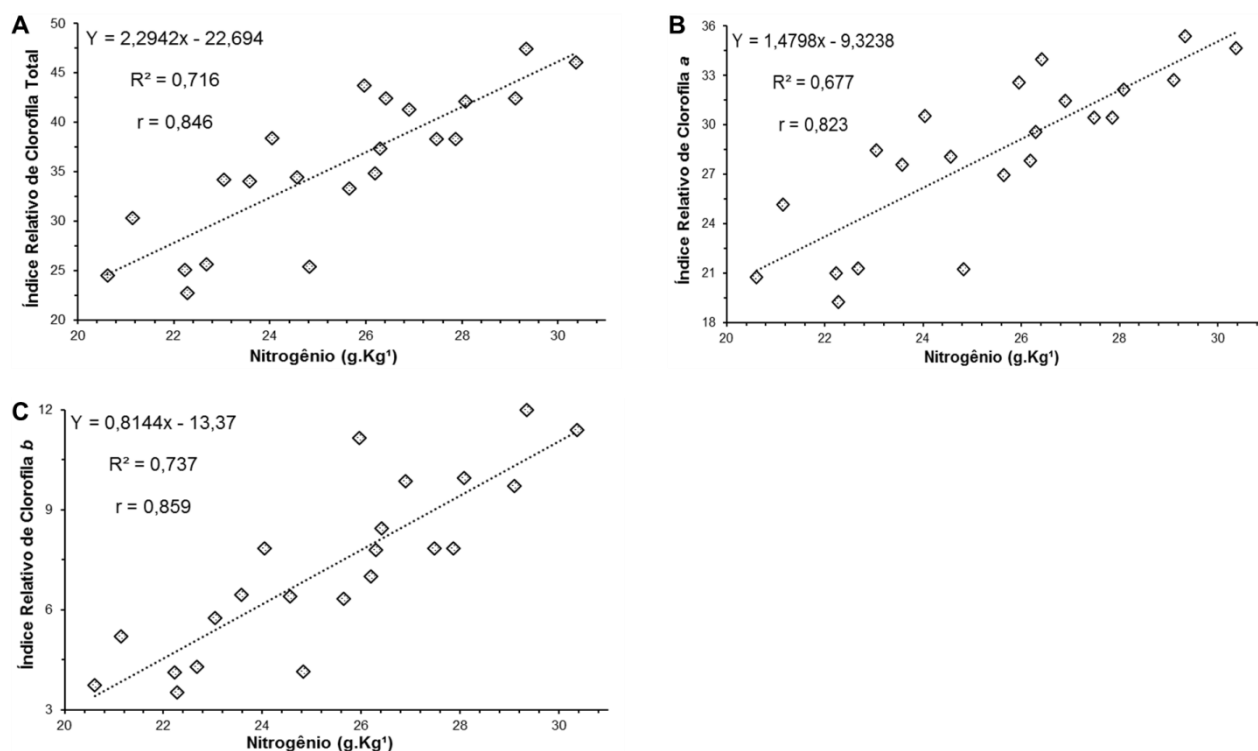


Figura 1. Equações lineares, coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de correlação ( $r$ ) entre os índices relativos de clorofilas total (A), *a* (B) e *b* (C) obtidos pelo medidor portátil ClorofiLOG CFL 1030 e os teores foliares de nitrogênio na videira cv. Chardonnay, determinados por meio de análise elementar.

O teor foliar de N apresentou o segundo melhor ajuste com o índice de clorofila total (Figura 1 A), com coeficiente de determinação igual a 0,716 e um coeficiente de correlação linear de 0,846. A alta relação observada entre as variáveis se deve às características estruturais das clorofilas, compostas basicamente por carbono, hidrogênio, magnésio e nitrogênio, sendo este último o elemento químico mais abundante no tecido foliar. Os menores coeficientes de determinação ( $R^2=0,677$ ) e de correlação linear ( $r=0,823$ ) foram observados entre os índices de clorofila *a* e os teores foliares de N. Mesmo assim, os modelos apresentam boa capacidade de predição dos teores do nutriente a partir do uso do clorofilômetro na cultura da videira. A relação entre os índices de clorofila *b* e os teores foliares de N apresentou o melhor ajuste, com coeficiente de determinação de 0,737 e o coeficiente de correlação linear de 0,859.

Brunetto et al. (2012) relataram que medidas de clorofilômetro SPAD-502 apresentaram uma relação linear e positiva com o teor foliar de nitrogênio na videira cv. Cabernet Sauvignon, com valores de  $R^2$  igual a 0,95 no florescimento (primeiro ano), e igual a 0,95 (primeiro ano) e 0,69 (segundo ano) no início da maturação (veraison). No estágio de florescimento da videira do segundo ano de avaliação, não houve relação.

Apesar de ser comum o ajuste de equações lineares entre essas variáveis, Padilla et al. (2018) observaram uma melhor aderência da equação quadrática para o pimentão doce, enquanto Jesus & Marengo (2008) observaram melhor ajuste de equações exponenciais para urucum, cupuaçu, limão e araçá-boi, demonstrando a necessidade de calibração do equipamento para cada espécie e condições edafoclimáticas de produção.

Dessa forma, o uso do clorofilômetro para o vinhedo e a cultivar em questão, pode ser

realizado para avaliação, de forma indireta, dos teores foliares de N no manejo de pomares vitícolas.

#### 4. Conclusões

Os índices relativos de clorofila total, *a*, e *b* obtidos pelo medidor portátil ClorofiLOG CFL 1030 apresentam correlação positiva com os teores foliares de nitrogênio em videira determinados por meio da análise elementar, tornando possível o emprego do equipamento na determinação indireta do teor foliar de nitrogênio no vinhedo.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo e financiamento ao projeto; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo; e à Vinícola Guaspari, pela disponibilização de área e apoio para realização do trabalho.

#### Referências

- BRUNETTO, G.; TRENTIN, G.; CERETTA, C. A.; GIROTTO, E.; LORENSINI, F.; MIOTTO, A.; MOSER, G. R. Z.; MELO, G. W. Use of the SPAD-502 in estimating nitrogen content in leaves and grape yield in grapevines in soils with different texture. *American Journal of Plant Sciences*, v. 3, p. 1546-1561, 2012.
- FAGERIA, N. K.; STONE, L. F.; SANTOS, A. B.; CARVALHO, M. C. S. Nutrição mineral do feijoeiro. Brasília: Embrapa Arroz e Feijão. 394 p. 2015.
- GODOY, L.J.G.; SOUTO, L.S.; FERNANDES, D.M.; BÔAS, R.L.V. Uso do clorofilômetro no manejo da adubação nitrogenada para milho em sucessão a pastagem de *Brachiaria decumbens*. *Ciência Rural*, v.37, n.1, p.38-44, 2007.
- JESUS, S.V. de; MARENCO, R. A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. *Acta Amazonica*, v.38, p.815-818, 2008.
- MIELE, A., RIZZON, L.A., GIOVANNINI, E. Efeito do porta-enxerto no teor de nutrientes em tecidos da videira 'Cabernet Sauvignon'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.33, p. 1141-1149, 2009.
- MERLINI, C.; BARRA G. M. O.; CUNHA, M. D. P. P.; RAMÔA, S. D. A. S.; SOARES, B. G.; PEGORETTI, A. Compósitos eletricamente condutivos de poliuretano derivados do óleo de mamona com fibras de palma de pêssego revestidas com polipirrol. *Compósitos de polímeros*, v.38, n.10, p. 2146-2155, 2017.
- OLDONI, H. ZONAS HOMOGÊNEAS DE ATRIBUTOS DE PLANTA E DO SOLO EM VINHEDO IRRIGADO. 106 p. Tese (Doutorado em Agronomia (Irrigação e Drenagem) - Universidade Estadual Paulista, Unesp, Botucatu, 2019.
- PADILLA, F. M.; SOUZA, R.; PEÑA-FREITAS, M. T.; GALLARDO, M.; GIMÉNEZ, C. & THOPSON, R. B. Different Responses of Various Chlorophyll Meters to Increasing Nitrogen Supply in Sweet Pepper. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, p. 1752-1766, nov. 2018.
- SILVA, M.A.; SANTOS, C.M.; VITORINO, H.S.; RHEIN, A.F.L. Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. *Bioscience Journal*, v.30, n.1, p.173-181, 2014.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6º ed. Porto Alegre: Artmed. 888 p. 2017.
- WOLF, W. M.; FLOSS, E. L. Correlação entre teores de nitrogênio e clorofila na folha com o rendimento de grãos de aveia branca. *Ciência Rural* 38:1510-1515. 2008.

**CORRELAÇÕES DA PRODUTIVIDADE DO ALGODOEIRO COM ÍNDICES DE VEGETAÇÃO OBTIDOS POR SÉRIES TEMPORAIS DE IMAGENS DE SATÉLITE**

Flavio S. Silva<sup>1,2</sup>, Carlos M.P. Vaz<sup>2,\*</sup>, Eduardo Speranza<sup>3</sup>, Rafael Galbieri<sup>4</sup>, Júlio C.D.M. Esquerdo<sup>3</sup>, João M. Villela<sup>2,5</sup>, Sílvio Crestana<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro Universitário Central Paulista-UNICEP, R. Miguel Petroni, 5111, 13563-470, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, R. Quinze de Novembro, 1452, 13561-354, São Carlos, SP

<sup>3</sup> Embrapa Informática, Av. Dr. André Tosello, 209, Cidade Universitária, 13083-886, Campinas, SP

<sup>4</sup> Instituto Matogrossense do Algodão-IMAmt, R. Eng. Edgard Prado Arze, 1777, 78049-015, Cuiabá, MT

<sup>5</sup> Universidade de São Paulo-USP, Escola de Engenharia de São Carlos-EESC, Av. Trab. São Carlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: carlos.vaz@embrapa.br

**Resumo:** Neste estudo utilizam-se séries temporais de NDVI obtidas das imagens do satélite MODIS (resolução espacial de 250 m) utilizando o aplicativo SATVeg desenvolvido pela Embrapa, em 138 talhões de produção comercial de algodão no estado de Mato Grosso, para estimar a produtividade do algodoeiro. Os resultados mostraram uma correlação não-linear positiva do NDVI médio em todo o ciclo (180 dias) com a produtividade e uma correlação negativa entre os coeficientes de variação dos pixels das imagens nos talhões com a produtividade, obtendo-se coeficientes de correlação linear ( $R^2$ ) de 0,26 e 0,25, respectivamente. O erro quadrático médio de estimativa obtido pelo modelo foi alto (cerca de 1 tonelada/ha), levando a um erro de estimativa de cerca de 30%. De um modo geral, considera-se que o procedimento proposto tem um bom potencial de aplicação prática, mas demanda algumas melhorias como a utilização de um número maior de talhões e a avaliação de imagens de outros satélites com maior resolução espacial.

**Palavras-chave:** sensoriamento remoto, NDVI, produtividade do algodoeiro, SATVeg

**CORRELATIONS OF COTTON YIELD PRODUCTIVITY WITH VEGETATION INDEXES OBTAINED BY TEMPORAL SERIES OF SATELLITE IMAGES**

**Abstract:** This study employs NDVI temporal series obtained from MODIS satellite images (spatial resolution of 250 m) using the web-based program SATVeg developed by Embrapa, in 138 commercial cotton production areas in Mato Grosso state, to estimate cotton yield. Results showed a positive non-linear correlation between NDVI averaged for the whole growing season (about 180 days) and cotton yield, and a negative correlation between the NDVI coefficient of variation of each field and yield, with linear determination coefficients ( $R^2$ ) of 0,26 and 0,25, respectively. The root mean square error obtained was high (about a ton/ha), producing an estimation error of about 30%. In general, it was considered that the proposed procedure has a good potential of practical application, but demands improvements as the use of larger number of fields and other satellite images with larger spatial resolution.

**Keywords:** remote sensing, NDVI, cotton yield, SATVeg

**1. Introdução**

O algodão é uma cultura de grande importância econômica para o Brasil, que é o 5º produtor mundial, atingindo na safra 2018/2019 um total de 2,7 milhões de toneladas de pluma, atrás apenas da Índia, China, EUA e Paquistão. Na última safra, exportou cerca de 1,7 milhões de ton. de algodão em pluma, conquistando a posição de 2º exportador mundial. O Centro-Oeste é a principal região produtora de algodão no país e o Mato Grosso é o principal estado produtor, com cerca de

1,8 milhões de ton. na safra 2018/2019, o que representa 66% da produção nacional (CONAB, 2019). Devido às extensas áreas utilizadas na produção do algodoeiro (1,59 milhões de hectares na safra 2018/2019), a utilização de sensoriamento remoto (SR) por imagens de satélite oferece uma excelente ferramenta para o monitoramento das áreas plantadas. Dentre os diversos índices de vegetação (IV) utilizados no SR, o NDVI (Índice de Vegetação da Diferença Normalizada) é um dos mais comuns, podendo ser utilizado para a identificação de pragas, de problemas nutricionais, de déficit hídrico, de estimativa da produtividade e na modelagem hidrológica (Shiratsuchi, 2014).

A produção do algodoeiro está relacionada com a quantidade de tecido fotossintético, índice de área foliar e biomassa e, dessa forma, os IV obtidos por SR podem ser utilizados para a obtenção de modelos de estimativa da produtividade (Baio et al. 2018). Nas aplicações de SR para a estimativa da produtividade são utilizadas imagens obtidas em um determinado momento do estágio vegetativo da cultura. No caso do algodoeiro Brandão et al. (2014) sugere que o melhor momento para a obtenção das imagens é em torno de 70 dias após a emergência, no início da fase reprodutiva, com o aparecimento do primeiro botão floral. No trabalho de Baio et al. (2018) as imagens de satélite utilizadas para se correlacionar a produtividade com NDVI foram obtidas entre 80 e 120 dias após o plantio (DAP). Entretanto, alguns trabalhos tem sugerido a utilização de séries temporais de IV para a correlação dos IV com a produtividade (Meng et al. 2017), minimizando assim alguns problemas como a da ocorrência de nuvens nas imagens de satélite.

Um sistema que permite a análise temporal de IV foi desenvolvido pela Embrapa, denominado SATVeg (Sistema de Análise Temporal da Vegetação). Trata-se de um software web que permite observar séries temporais dos índices vegetação NDVI e EVI (Índice de Realce da Vegetação) dos satélites MODIS, oferecendo um monitoramento para todo o território brasileiro. Este trabalho tem o objetivo de correlacionar IV obtidos em áreas de produção do algodoeiro no estado do Mato Grosso com a produtividade, utilizando séries temporais fornecidas pelo SATVeg, durante todo o ciclo da cultura (cerca de 180 dias). Para tanto, foram utilizados talhões de produção do algodoeiro no Mato Grosso, contendo informações das produtividades e as datas da semeadura, bem como outros parâmetros físicos e químicos dos solos dessas áreas (Galbieri et al. 2016).

## 2. Materiais e Métodos

Os dados utilizados nesse estudo foram obtidos pelo IMAmt (Galbieri et al. 2016) com 1.779 talhões de cultivo comercial de algodão no Mato Grosso, em 4 safras (2011-2012 até 2014-2015). Desses, foram selecionados 138 talhões, com grande variação na produtividade. A produtividade média desses 138 talhões foi de 3,4 toneladas/ha, com máxima de 6,1 e mínima de 0,95 ton/ha. Quanto ao sistema de plantio, em um total de 132 talhões (96%) utilizou-se o Plantio Direto (6 talhões utilizaram Plantio Convencional). Quanto ao espaçamento, em 31 talhões (22%) adotou-se o plantio adensado (linhas espaçadas de 45 cm), sendo o restante convencional (90 e 76 cm). O cultivo em safra foi realizado em 81 talhões (57 foram safrinha). As semeaduras foram realizadas nos meses de dezembro a fevereiro, sendo a maioria em dezembro.

As séries temporais de NDVI foram obtidas da plataforma SATVeg, que utiliza imagens dos satélites MODIS obtidos e disponibilizados gratuitamente pela NASA desde 2000, com tempo de revisita de 16 dias e resolução espacial de 250 m. O NDVI é um dos IV mais utilizados em SR, o qual é determinado por uma razão entre a reflexão da luz do sol em comprimentos de onda do infravermelho próximo (IVP) e do vermelho (V):  $NDVI = (IVP - V) / (IVP + V)$ .

Cada talhão foi identificado no SATVeg pela sua coordenada geográfica e, posteriormente, desenhado um polígono nos limites do talhão, definindo o número de blocos ou pixels existentes nas imagens para as análises de NDVI no talhão. Devido à presença de nuvens os valores de NDVI podem apresentar oscilações ao longo da safra e para minimizar esse problema o SATVeg pode aplicar uma pré-filtragem. Contudo, testes realizados mostraram que alguns períodos de entressafra foram confundidos com nuvem e assim esse procedimento automático não foi adotado. Em alguns poucos casos onde verificou-se efeito severo de nuvem no NDVI, o mesmo foi corrigido manualmente pela média dos vizinhos. Após as análises no SATVeg os dados de NDVI foram

exportados em planilhas de Excel, contendo valores de NDVI médios, desvios padrão e datas das imagens. Em função da data da semeadura de cada talhão define-se a escala de DAP (dias após o plantio) para cada valor de NDVI das 12 imagens obtidas entre 0 e 180 DAP.

Em função da variação das produtividades mínimas e máximas observadas na base de dados original, estabeleceu-se 14 classes de produtividade com cerca de 10 talhões para cada classe, totalizando 138 talhões para as análises. Os 12 valores de NDVI entre DAP 0 e 180 foram interpolados pelo software Origin 6.1 e posteriormente determinados os valores médios, desvios padrão nas seguintes faixas de DAP: 0-180 (todo o ciclo), 0-30 (mês 1), 30-60 (mês 2), 60-90 (mês 3), 90-120 (mês 4), 120-150 (mês 5) e 150-180 (mês 6). Os valores médios obtidos por faixas foram correlacionados com as produtividades para todos os talhões, visando o estabelecimento dos melhores modelos para a estimativa da produtividade do algodoeiro baseado no NDVI.

### 3. Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra a tela do SATVeg (Fig. 1A) com a identificação de um dos talhões avaliados neste trabalho e duas séries temporais obtidas pelas médias de grupos de 10 talhões com as menores e maiores produtividades (Fig. 1B). Nos dois casos observam-se perfis típicos de NDVI para a cultura do algodoeiro e valores mais baixos de NDVI para a classe de menor produtividade (linha vermelha). Para o ciclo do algodoeiro, observa-se uma fase inicial com forte aumento do NDVI, até cerca de 60-80 DAP, seguido de estabilização até aproximadamente 120-130 dias e depois um decaimento gradual até o final da safra (colheita).

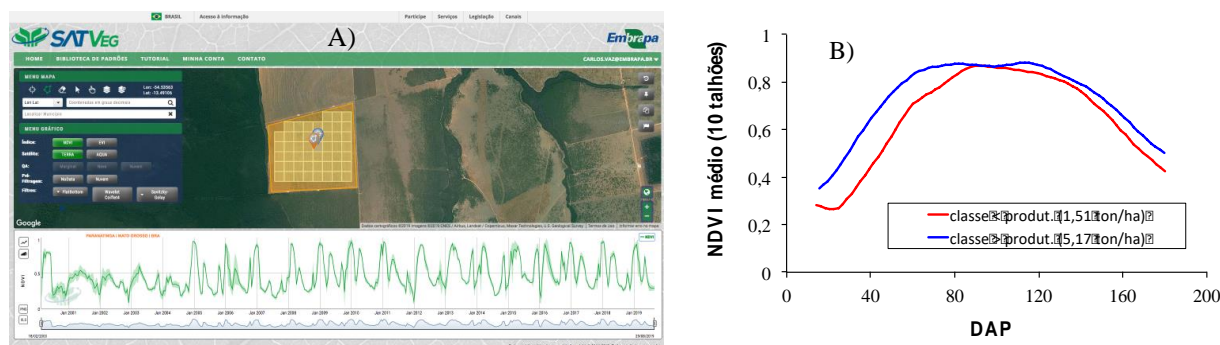


Figura 1. Tela do SATVeg (A) e séries temporais de NDVI para talhões de áreas de alta (5,2 ton/ha) e baixa (1,53 ton/ha) produtividades (B). DAP: dias após o plantio.

A Figura 2 apresenta a relação entre as médias de  $NDVI_{0-180 \text{ DAP}}$  e as produtividades dos 138 talhões (Fig. 2A), bem como dos coeficientes de variação (CV) médios de NDVI obtidos dos desvios padrão dos pixels identificados nos talhões (Fig. 2B), com a as produtividades. Observa-se um aumento não-linear do  $NDVI_{0-180 \text{ DAP}}$  e uma diminuição de  $CV-NDVI_{0-180 \text{ DAP}}$  com o aumento da produtividade. No caso do  $NDVI_{0-180 \text{ DAP}}$  isso se dá pela influência do vigor das plantas e quantidade de biomassa na produção, que é expresso no NDVI. Já o efeito inverso observado para o  $CV-NDVI_{0-180 \text{ DAP}}$  se dá pelo fato de que quanto maior a variabilidade do NDVI dentro do talhão maior será a possibilidade de ocorrência de danos por doenças e pragas, compactação, déficit hídrico, e que se expressa na variabilidade espacial da produção. Efeitos similares aos aqui observados foram descritos por Baio et al. (2018) utilizando imagens do satélite do Landsat.

Os valores dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) obtidos entre  $NDVI_{0-180 \text{ DAP}}$  e  $CV-NDVI_{0-180 \text{ DAP}}$  com a produtividade foram baixos, mas deve-se considerar que nesses talhões foram utilizadas diferentes cultivares, datas e sistemas de plantio, tipos de solo e condições climáticas, ou seja há diversos fatores de confundimento. Avaliando-se o erro do modelo para a estimativa da produtividade, obtêm-se um valor de cerca de 1,0 ton/ha, ou seja de cerca de 30%, considerando a média da produção dos 138 talhões que é de 3,4 ton/ha. Apesar desse erro ser muito alto, o método proposto apresenta um bom potencial e condições de ser melhorado, agregando-se mais dados, de modo a gerar um modelo mais robusto e, em uma etapa posterior, utilizando imagens de satélites com maior resolução espacial, como as do Landsat (resolução de 30 m) ou Sentinel (10 m), já que a

resolução espacial das imagens do satélite MODIS utilizadas neste trabalho é de apenas 250 m.

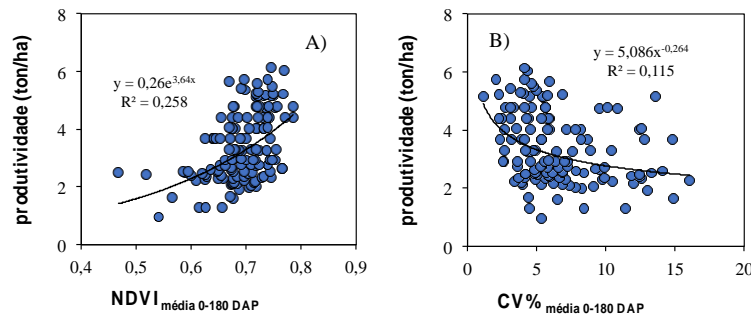


Figura 2. Correlação da produtividade com o NDVI médio ao longo de todo o ciclo da cultura (NDVI<sub>0-180 DAP</sub>) (A) e com o coeficiente de variação (CV%-NDVI<sub>0-180 DAP</sub>) (B).

Além da utilização dos valores de NDVI durante todo o ciclo (NDVI<sub>0-180 DAP</sub>) foram obtidas as médias de NDVI por mês do ciclo de produção, que foram correlacionados também com a produtividade. Apesar dessas correlações das médias mensais de NDVI fornecerem valores de  $R^2$  menores daqueles com o NDVI<sub>0-180 DAP</sub>, as informações geradas são úteis, podendo indicar o melhor momento para se obter as imagens de satélite para o algodoeiro quando não há possibilidade de se obter as séries temporais. A Figura 3 apresenta as correlações das médias mensais de NDVI com as produtividades. Nesse caso, são apresentados os valores médios por classes de produtividades (14 classes) para facilitar a visualização e a análise, motivo pelo qual, os valores de  $R^2$  mostrados na Figura 3 são superiores aos da Figura 2, onde todos os pontos são apresentados, ao invés das médias por classes de produtividade. Nesse caso, verifica-se a melhor correlação da produtividade com NDVI<sub>60-90 DAP</sub> ( $R^2=0,52$ ), sendo também muito próximo ao valor obtido para NDVI<sub>0-180 DAP</sub> ( $R^2=0,51$ ). Esse resultado concorda com o de Brandao et al. (2014), que verificaram também a melhor correlação da produtividade com o NDVI avaliado 70 dias após a emergência (DAE).

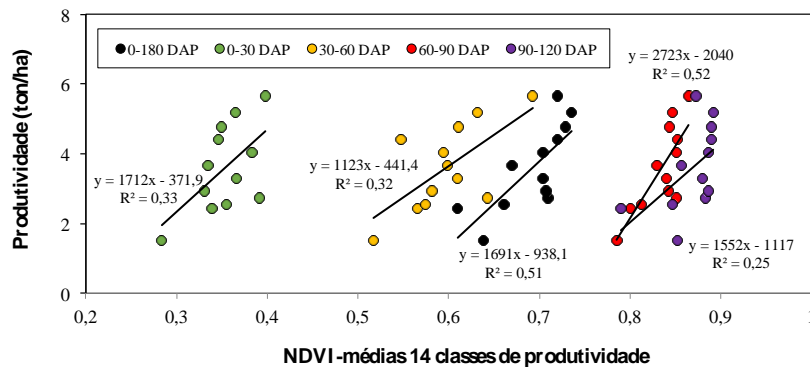


Figura 3. Variação da produtividade com as médias de NDVI das 14 classes de produtividade (~10 talhões por classe) por mês do ciclo da cultura (0-30, 30-60, 60-90, 90-120 e 0-180 DAP).

A base de dados do IMAmt utilizada neste trabalho (Galbieri et al. 2016) possui informações de parâmetros, físicos e químicos do solo, bem como de fitonematoides. Visando avançar no entendimento dos fatores que poderiam estar influenciando na produtividade e no NDVI, os mesmos foram correlacionados com todos os parâmetros disponíveis na base de dados. Em geral, os coeficientes de correlação foram muito baixos ( $R^2 < 0,1$ ). Entretanto, verificou-se alguns casos com  $R^2 \geq 0,1$ , como observado na Figura 4. Para o NDVI a melhor correlação (Fig. 4A) foi obtida com a resistência do solo à penetração (RP), medida com penetrômetro, na camada 0-10cm (superficial), indicando a influência da compactação ou de estresse hídrico, uma vez que a RP aumenta com a diminuição da umidade do solo no NDVI. No caso da produtividade obteve-se as melhores correlações com os parâmetros químicos do solo como teores de cálcio, magnésio, soma de bases e zinco, sendo a correlação positiva, como esperado.

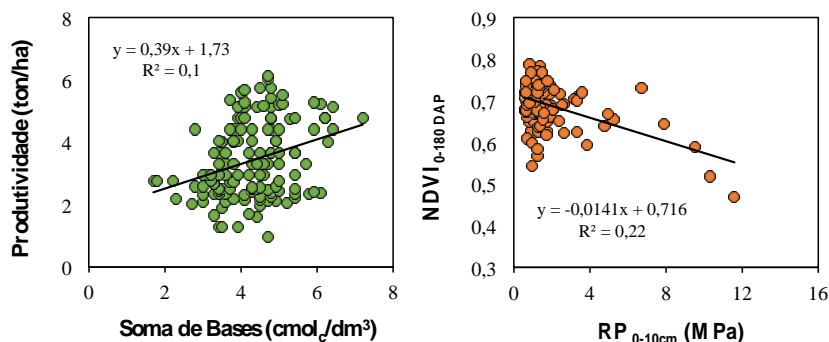


Figura 4. Relações entre a produtividade do algodoeiro e soma de bases (A) e NDVI<sub>0-180 DAP</sub> com a resistência do solo à penetração (RP) na camada superficial, 0-10cm (B).

#### 4. Conclusões

Verificou-se uma tendência (não-linear) de aumento nos valores de NDVI, com o aumento da produtividade do algodoeiro, analisando 138 talhões de produção comercial. A variabilidade espacial do NDVI nos talhões influenciou negativamente na produtividade, ou seja, quanto maior o coeficiente de variação do NDVI, menor a produtividade. Os dados apresentados mostraram um grande potencial de utilização do sensoriamento remoto com séries temporais de imagens de satélite (obtidas pelo SATVeg) para o desenvolvimento de modelos de estimativa da produtividade, baseados na análise dessas imagens, inclusive em uma etapa inicial da cultura (60-90 dias após a semeadura). O SATVeg mostrou-se uma ferramenta muito prática e com excelentes possibilidades de aplicações em estudos agrônômicos, como no caso de estimativas de produtividade.

#### Agradecimentos

Embrapa (projeto 41.14.09.001.00), CNPq (projeto 312282/2017-6), Instituto Matogrossense do Algodão.

#### Referências

- BAIO, F.H.R., D.C. NEVES, C.N.S. CAMPOS, P.E. TEODORO. Relação entre a produtividade do algodão e variabilidade de NDVI obtidos por imagens Landsat. – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Brasil
- BRANDAO, Z.N., GREGO, C.R., INAMASU, R.Y., JORGE, L.A.C. Spectral reflectance of satellite images using geostatistics methods to estimate growth and cotton yield. Remote Sensing for Agriculture, Ecosystems, and Hydrology. Proc. SPIE v.9239, 923920, 2014
- CONAB, 2019. Boletim da safra de grãos. 12º Levantamento-safra 2018/19. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos/boletim-da-safra-de-graos>> Acesso em 17/09/2019
- GALBIERI, R., C.M.P. VAZ, J.F.V. SILVA, G.L.A. AMUS, S. CRESTANA, E.S. MATOS, C.A.S. MAGALHAES. Influência dos parâmetros do solo na ocorrência de fitonematoides. In: Rafael Galbieri; Jean Louis Belot. (Org.). Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: Biologia e medidas de controle. 1ed.Cuiabá: IMAmt, v.3, p.37-90, 2016
- MENG, L., X. ZHANG, H. LIU, D. GUO, Y. YAN, L. QIN, Y. PAN. Estimation of cotton yield using the reconstructed time-series vegetation index of Landsat data. Canadian Journal of Remote Sensing, v. 43, n.3, p. 244-255, 2017
- SHIRATSUCHI, L.S., Z.N. BRANDÃO, L.E. VICENTE, D.C. VICTORIA, J.R. DUCATI, R.P. OLIVEIRA, M. F. Vilela. Sensoriamento remoto: conceitos básicos e aplicações na Agricultura de Precisão. In: BERNARDI, A.C.C, NAIME, J.M., RESENDE, A.V., BASSOI, L.H., INAMASU, R.Y. Agricultura de Precisão-Resultados de um novo olhar. Brasília-DF, 2014



## DELINEAMENTO DE ZONAS DE MANEJO EM CANA-DE-AÇÚCAR A PARTIR DE ATRIBUTOS DO SOLO E DA CULTURA E IMAGENS GEORREFERENCIADAS

E. A. Speranza<sup>1</sup>, C. R. Grego<sup>1</sup>, L.A.C. Jorge<sup>2</sup>, C.A.G. Rodrigues<sup>3</sup>, A. Luchiari Jr. <sup>1</sup>, C.C. Ronquim<sup>3</sup>, G.M. Sanches<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Informática Agropecuária, Av. André Tosello, 209, 13083-886, Campinas, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

<sup>3</sup> Embrapa Territorial, Av. Soldado Passarinho, 303, 13070-115, Campinas, SP

<sup>4</sup> Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz (ESALQ/USP), Av. Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, SP

\* Autor correspondente, e-mail: eduardo.speranza@embrapa.br

**Resumo:** Os mapas de zonas de manejo, obtidos a partir de diferentes atributos do solo e da cultura, podem ser utilizados em diferentes atividades realizadas no contexto da agricultura de precisão, tais como aplicação de fertilizantes e corretivos, irrigação e plantio. Este trabalho descreveu o delineamento de zonas de manejo para uma área experimental de cana-de-açúcar, a partir da utilização de dados de atributos do solo e da cultura obtidos por sensoriamento proximal e suborbital em conjunto com algoritmos de agrupamento de dados. Os resultados obtidos mostraram que zonas de manejo delineadas a partir desses atributos são capazes de auxiliar o produtor no tratamento de áreas espacialmente diferenciadas com relação à produtividade.

**Palavras-chave:** agricultura de precisão, aeronave remotamente pilotada, sensoriamento proximal, agrupamento de dados, produtividade da cultura.

## DELINEATION OF SUGARCANE MANAGEMENT ZONES BASED ON SOIL AND CROP ATTRIBUTES AND GEORREFERENCED IMAGES

**Abstract:** Management zone maps, derived from different soil and crop attributes, can be used for different tasks performed within the precision agriculture context, such as fertilizer and corrective application, irrigation and planting. This work described the delineation of management zones for a sugarcane experimental area, based on the use of soil and crop attribute data obtained by proximal and sub orbital sensing with data clustering algorithms. The results showed that management zones delineated from these attributes are able to assist the farmer in the treatment of spatially differentiated areas regarding yield.

**Keywords:** precision agriculture, remotely piloted aircraft, proximal sensing, data clustering, crop yield.

### 1. Introdução

O manejo agrícola utilizando conceitos de agricultura de precisão (AP) tem sido impulsionado pela utilização de tecnologias de informação e comunicação (TIC) emergentes na era da agricultura digital (QUEIRÓS et al., 2014; MASSHURÁ e LEITE, 2015). Dentre essas tecnologias, além dos já amplamente utilizados sensores orbitais e proximais, que permitem a identificação da variabilidade espacial tanto do solo quanto da cultura, é notável o aumento da utilização de sensores sub orbitais a bordo de aeronaves remotamente pilotadas (ARPs), popularmente conhecidas como *drones* (JORGE et al., 2014). As câmeras a bordo das ARPs são capazes de obter imagens multiespectrais com resoluções espaciais submétricas que permitem a identificação semiautomática de plantas daninhas e doenças na cultura, bem como a sua variabilidade espacial por meio de índices de vegetação que podem ser correlacionados com a produtividade, como o NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*) e o NDRE (*Red-Edge*

NDVI) (AMARAL et al., 2015). Em comparação com imagens obtidas por meio de sensoriamento remoto, o sensoriamento suborbital, além de possibilitar a obtenção de imagens com maior resolução espacial, também evita o problema recorrente de presença de nuvens.

No contexto da AP, atividades como plantio, intervenções com aplicação de fertilizantes e corretivos, irrigação, dentre outras, podem ser geridas de maneira uniforme em sub-regiões com variabilidade espacial reduzida com relação aos atributos do solo e da cultura, conhecidas como zonas de manejo (ZM). Segundo Luchiari Junior et al. (2000), uma ZM pode ser definida como uma porção de terreno interna a um talhão onde o potencial de produção, a eficiência do uso de insumos e o risco de impacto ambiental são uniformes. Conceitualmente, as ZM devem ser estáveis no tempo. Desse modo, devem ser definidas com base em atributos não antrópicos, como é o caso da condutividade elétrica aparente (CEa) do solo e dos índices vegetativos NDVI e NDRE.

Este trabalho teve como objetivo delinear zonas de manejo em uma área experimental de cultivo de cana-de-açúcar, considerando dados de CEa do solo, obtidos a partir de sensor proximal; e NDVI e NDRE, a partir de imagens capturadas por câmeras a bordo de ARPs. Foram utilizadas diferentes combinações entre esses atributos para identificar melhores correlações entre as ZMs e valores médios de produtividade, obtidos por meio de biometria realizada em campo.

## 2. Materiais e Métodos

O estudo foi realizado em um talhão de cana-de-açúcar da Fazenda Santa Helena, localizada em Ibaté-SP, com área de aproximadamente 15 hectares (ha), pertencente a Usina Santa Cruz. O sistema de plantio mecanizado atualmente adotado é do tipo meiosi (método interrotacional ocorrendo simultaneamente). Os dados obtidos para este estudo são da safra de cana-planta 2018/2019. Os dados de CEa do solo nas profundidades de 0,375 m e 0,75 m foram obtidos antes do plantio, em fevereiro de 2018, por meio de coleta de dados realizada com o sensor de indução eletromagnética EM38-MK2<sup>®</sup>, na posição dipolo horizontal com espaçamento entre as bobinas receptoras do equipamento de 0,5 m e 1 m, respectivamente (SPERANZA et al., 2018). Também foram obtidas imagens multiespectrais com resolução espacial de aproximadamente 18 cm, a partir de câmeras a bordo de ARP em duas datas, entre os meses de outubro e dezembro de 2018, período de maior crescimento vegetativo da cultura e com a maior cobertura sobre o solo. A partir desses dados, foram gerados mapas de NDVI e NDRE para essas duas datas (Figura 1), além de imagens no espectro visível.

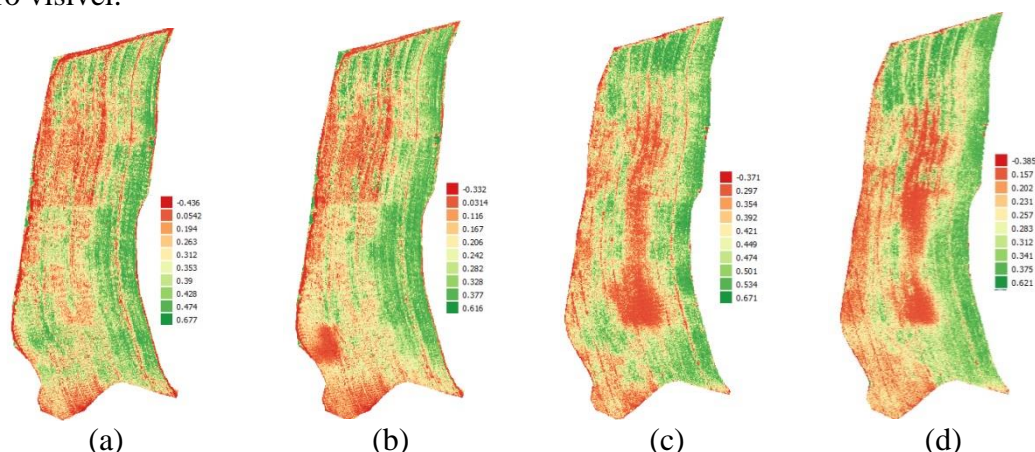


Figura 1. Mapas de índices de vegetação obtidos a partir de imagens multiespectrais capturadas por câmeras a bordo de ARP: (a) NDVI e (b) NDRE em outubro de 2018; (c) NDVI e (d) NDRE em dezembro de 2018. A escala de 10 cores para todos os mapas representa classes para os valores do índice correspondente, que vão desde o vermelho (menores valores) até o verde (maiores valores).

O delineamento de ZM foi realizado com a utilização de algoritmos de agrupamento de dados (XU e WUNSCH, 2005). Como o estudo foi realizado em uma área de produção relativamente pequena, e conforme as indicações de variabilidade do solo já verificadas no trabalho

desenvolvido em Speranza et al. (2018), foi fixada a quantidade de duas ZM para todas as combinações de atributos utilizadas. Os mapas de NDVI e NDRE foram extrapolados para a grade espacial utilizada originalmente para os dados de CEa (pixel de 5 m<sup>2</sup>), a partir do cálculo de valores médios de pixels das imagens originais contidos em cada pixel da nova grade. Com isso, pixels referentes à bordadura da área, que correspondem a valores negativos de NDVI e NDRE (Figura 1), acabaram sendo eliminados. Como entrada para os algoritmos de agrupamento foram utilizadas as seguintes combinações de atributos: (I) CEa do solo (0,375 m e 0,75 m de profundidade); (II) NDVI em ambas as datas; (III) NDRE em ambas as datas; (IV) NDVI e NDRE (outubro de 2018); (V) NDVI e NDRE (dezembro de 2018); (VI) NDVI e NDRE em ambas as datas; (VII) NDVI e NDRE (outubro de 2018) e CEa do solo (0,5m e 1m); (VIII) NDVI e NDRE (dezembro de 2018) e CEa do solo (0,375 m e 0,75 m de profundidade); (IX) todos os atributos.

A avaliação de biometria para estimativa de produtividade foi realizada em junho de 2019, considerando 31 pontos amostrais definidos por meio de Sistema de Informações Geográficas (SIG) e com base nas imagens do espectro visível (Figura 2a). Os colmos de cana-de-açúcar foram pesados em campo (Figura 2b), seguindo a metodologia descrita por GHILLER et al. (1999). Essa metodologia estima o peso total da parcela considerando o número de colmos pelo peso médio de colmos da área amostrada, permitindo a obtenção de estimativas pontuais de produtividade em toneladas por hectare. Para esse trabalho, foi utilizado o equipamento portátil GRS-1 (*Topcon Positioning Systems, Inc.*) para localização dos pontos planejados previamente para a área de amostragem. Esse equipamento possui sensor GNSS interno de alta precisão, capaz de obter sinais de satélites GPS e GLONASS das portadoras L1 e L2, e o software de navegação *TopSurv*, versão 8. Com a utilização desse equipamento, o erro médio de posicionamento dos pontos planejados com relação aos pontos executados foi de 50 cm. Desse modo, foram evitados maiores erros de localização considerando que a cultura estava com alto acamamento devido ao grande crescimento vegetativo característico da variedade (Sweet 9005HP, HP = hiperprecocidade).



(a)



(b)

Figura 2. Planejamento e execução de biometria em campo: (a) imagem no espectro visível da área de estudo (créditos: Lucio A. C. Jorge) e pontos georreferenciados com a utilização de SIG; e (b) pesagem de colmos durante operação de biometria (créditos: Cristina A. G. Rodrigues).

### 3. Resultados e Discussão

A partir da metodologia descrita na Seção 2, foram gerados mapas contendo duas ZM, considerando as diferentes combinações de atributos propostas (I a IX). Os valores médios de produtividade, a área (em ha) e a área relativa com relação à área total de cada ZM gerada foram calculados, como forma de verificar quais mapas de ZM evidenciam mais as diferenças de produtividade da área de estudo (Tabela 1).

Tabela 1. Produtividade estimada média (em ton/ha), área (em ha), área relativa à área total (em %) e diferença de produtividade nas diferentes ZM dos mapas obtidos a partir de diferentes configurações de atributos. CA: combinação de atributos; PM: produtividade média; ZM: zona de manejo; DP: diferença de produtividade.

CA	PM (ZM1)	PM (ZM2)	Área ZM1 (ha)	ZM1 (%)	Área ZM2 (ha)	ZM2 (%)	DP (ton/ha)
I	94,47	107,1	8,9	56,7	6,8	43,3	12,6
II	102,6	91,9	12,6	80,2	3,1	19,8	10,8
III	102,3	95,9	9,5	60,9	6,2	39,1	5,4
IV	99,2	100,9	6,8	43,1	8,9	56,9	1,8
V	101,4	83,1	14,8	94,5	0,9	5,5	18,3
VI	98,8	105,9	11,8	75,2	3,9	24,8	7,0
VII	94,0	109,9	8,7	55,5	7,0	45,5	15,8
VIII	96,6	102,1	5,5	35,0	10,2	65,0	5,6
IX	103,2	92,7	11,8	75,5	3,9	24,5	10,5

Os resultados da Tabela 1 mostram que a utilização dos índices NDVI e NDRE de outubro de 2018 (IV) proporcionaram ZM com diferença mínima de produtividade. Nesse caso, a dificuldade em separar ZM com produtividades distintas pode estar ligada ao fato de que, nesse período, a cultura ainda não havia atingido um nível de maturidade capaz de realizar uma diferenciação a partir desses índices. Por outro lado, essa diferença é bastante acentuada (~18 ton/ha) quando são utilizados os mesmos índices, coletados em dezembro de 2018 (V). Entretanto, esse resultado pode ter sido enviesado pela grande diferença de área entre as ZM, fazendo com que apenas 2 amostras fossem utilizadas para compor a média de produtividade da ZM 2 (Figura 3b). A configuração VII apresenta o segundo melhor nível de diferenciação de produtividade (~16 ton/ha) em duas ZM com área similar (Figura 3c). Esse fato também pode ser observado na configuração I (Figura 2a), porém como uma diferenciação menor com relação à produtividade (~13 ton/ha). Em resumo, os resultados mostram que a configuração VII aparenta ser a mais adequada para a área em questão, pois inclui atributos da cultura não utilizados pela configuração I que causaram pequenas modificações na distribuição geográfica das ZM, porém proporcionando uma distribuição mais robusta com relação à observação de diferenças na produtividade.

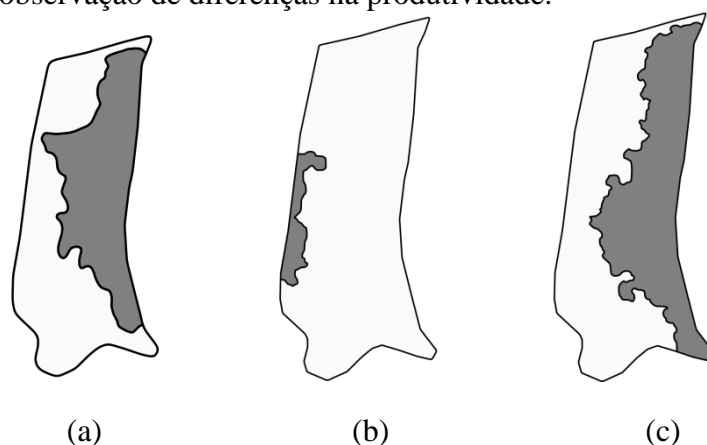


Figura 3. Mapas de ZM (identificadas por diferentes tons de cinza) a partir de diferentes combinações de atributos de entrada: (a) CEa do solo (0,375 m e 0,75 m de profundidade); (b) NDVI e NDRE (dezembro de 2018); (c) NDVI e NDRE (outubro de 2018) e CEa do solo (0,375 m e 0,75 m de profundidade).

#### 4. Conclusões

Neste trabalho foram apresentados mapas de ZM para uma área experimental de cultivo de cana-de-açúcar obtidos a partir de atributos do solo e da cultura. Os resultados mostraram que tanto os dados de CEa do solo, quanto os índices vegetativos, em uma resolução espacial aceitável, podem proporcionar a obtenção de mapas de ZM capazes de expressar a variabilidade espacial de uma área de cultivo e serem úteis para posteriores intervenções espacialmente diferenciadas.

#### Agradecimentos

Agradecemos à Usina Santa Cruz, pela disponibilização da área experimental e equipe de campo para auxiliar nos trabalhos.

#### Referências

- AMARAL, L. R.; MOLIN, J. P.; PORTZ, G.; FINAZZI, F. B.; CORTINOVE, L. Comparison of crop canopy reflectance sensors used to identify sugarcane biomass and nitrogen status. *Precision Agriculture*, v. 16, n. 1, p. 15-28, 2015.
- GHELLER, A.C.A.; MENEZES, L.L.; MATSUOKA, S.; MASUDA, Y.; HOFFMANN, H.P.; ARIZONO, H.; GARCIA, A.A.F. Manual de método alternativo para medição da produção de cana-de-açúcar. Araras: UFSCAR/CCA/DBV, 1999. 7p.
- JORGE, L.A.C.; INAMASU, R. Y. Uso de veículos aéreos não tripulados (VANT) em agricultura de precisão. In: BERNARDI, A.C.C. et al. (Ed). *Agricultura de Precisão: resultados de um novo olhar*. Brasília, DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2014, p. 109-134.
- LUCHIARI JUNIOR, A.; SHANAHAN, J.; LIEBIG, M.; SCHLEMMER, M.; SCHEPERS, J. S.; FRANCIS, D.; PAYTON, S. Strategies for Establishing Management Zones for Site Specific Nutrient Management. In: *INTERNATIONAL CONFERENCE ON PRECISION AGRICULTURE*, 5, 2000, Minneapolis. Proceedings.. Minneapolis: University of Minnesota, 2000.
- MASSRUHÁ, S. M. F. S.; LEITE, M. A. A. Agricultura digital. *Revista Eletrônica Competências Digitais para Agricultura Familiar*, v. 2, n. 1, p. 72-88, 2016.
- QUEIRÓS, L. R.; LUCHIARI JUNIOR, A.; CAMARGO NETO, J., MASSHURÁ, S. M. F. S.; INAMASU, R. Y.; SPERANZA, E. A.; EVANGELISTA, S. R. M. Análise das possibilidades e tendências do uso das tecnologias da informação e comunicação em Agricultura de Precisão. In: BERNARDI, A.C.C. et al. (Ed). *Agricultura de Precisão: resultados de um novo olhar*. Brasília, DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2014, p. 97-108.
- SPERANZA, E. A.; GREGO, C. R.; RODRIGUES, C. A. G.; SANCHES, G. M.; LUCHIARI JUNIOR, A. Caracterização da variabilidade espacial do solo a partir de medidas de condutividade elétrica. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRICULTURA DE PRECISÃO*, 2018, Curitiba. *Construção dos dados na era da digitalização agrícola: anais*. [S.l.]: AsBraAP, [2018]. p. 329-334. ConBAP 2018.
- XU, Rui; WUNSCH, Donald C. Survey of clustering algorithms. *IEEE Transactions on Neural Networks*, v. 16, n.3, p. 645-678, 2005.

**PLATAFORMA PARA COMPARTILHAMENTO DE DADOS DE PESQUISA EM AGRICULTURA DE PRECISÃO**

E. A. Speranza<sup>1,\*</sup>, A.R.S. Brandini<sup>2</sup>, Ricardo Y. Inamasu<sup>3</sup>, L.A.C. Jorge<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Embrapa Informática Agropecuária, Av. André Tosello, 209, 13083-886, Campinas, SP*

<sup>2</sup> *Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Computação, Rodovia Washington Luiz, km 235, 13565-905, São Carlos, SP*

<sup>3</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: eduardo.speranza@embrapa.br*

**Resumo:** Este trabalho descreve a experiência de utilização da plataforma GeoNode para o compartilhamento de dados de pesquisa da Rede de Agricultura de Precisão da Embrapa. A plataforma se mostrou uma boa solução, principalmente para o compartilhamento de dados vetoriais. Para imagens com alta resolução espacial, algumas melhorias são necessárias, principalmente com relação à obtenção dos dados por parte dos usuários autorizados.

**Palavras-chave:** Geoprocessamento; Imagens; Metadados

**PLATFORM FOR DATA SHARING ON PRECISION AGRICULTURE**

**Abstract:** This paper describes the experience of using the GeoNode platform for sharing research data from Precision Agriculture Network of Embrapa. The platform proved to be a good solution, especially for vector data sharing. For images with high spatial resolution, some improvements are necessary, especially with regard to obtaining data by authorized users.

**Keywords:** Geoprocessing; Images; Metadata

**1. Introdução**

A constante expansão e evolução da pesquisa científica realizada por universidades e instituições de pesquisa exige cada vez mais garantias de manutenção da integridade, eficiência e reprodutibilidade do conhecimento gerado. Um dos pré-requisitos para que essas garantias possam ser satisfeitas é a organização e compartilhamento dos dados relevantes relacionados às publicações geradas, para que possam ser reutilizados em pesquisas futuras. Segundo FAPESP (2017), a gestão de dados relevantes de pesquisa deve ser realizada de maneira suficiente a garantir o maior benefício possível para os novos avanços científicos e tecnológicos que podem ocorrer no futuro.

No contexto da Agricultura de Precisão (AP), que se baseia em manejo sítio-específico para atividades como aplicação de insumos e corretivos à taxa variada, irrigação, plantio, identificação de pragas e doenças, dentre outras, os dados coletados em campo, sejam estes relacionados à atributos do solo ou da cultura, devem estar associados a localizações geográficas que permitam a sua visualização em forma de mapas. Desse modo, as plataformas computacionais utilizadas para facilitar o compartilhamento desses dados devem conter funcionalidades específicas de armazenamento, processamento, recuperação e catalogação de conjuntos de dados georreferenciados.

Este trabalho descreve a experiência de utilização da plataforma GeoNode (GEONODE, 2019), um software livre e de código aberto, para o desenvolvimento de um repositório que permitisse o compartilhamento de dados georreferenciados pela comunidade de pesquisadores da Rede de Agricultura de Precisão da Embrapa (Rede AP). As principais funcionalidades da plataforma foram avaliadas, considerando especificamente dados de pesquisa em AP. A partir das conclusões relacionadas as limitações das funcionalidades disponíveis, algumas melhorias foram propostas no sentido de atender aos requisitos relacionados a todos os tipos de dados utilizados nas pesquisas da Rede AP.

## 2. Materiais e Métodos

A plataforma GeoNode se utiliza de software livre e distribuição gratuita, como o Sistema Gerenciador de Bancos de Dados (SGBD) PostgreSQL com extensão espacial PostGIS (CORTI et al., 2014) e o servidor de mapas GeoServer (GEOSERVER, 2019), para permitir a disponibilização dos dados em diferentes formatos, preferencialmente georreferenciados, acompanhados de metadados que identificam questões como as relacionadas à autoria e qualidade dos dados coletados.

O repositório de dados da Rede AP, baseado na plataforma GeoNode, foi criado com o principal objetivo de proporcionar o armazenamento, catalogação de metadados e o compartilhamento de conjuntos de dados georreferenciados obtidos em pesquisas de campo entre os membros da Rede AP. Para tanto, adaptações relacionadas à padronização do *layout* das telas da plataforma, bem como questões relacionadas à segurança de acesso aos dados, por meio de autenticação com senha segura e acesso limitado às camadas foram desenvolvidas, tendo como base a versão 2.8 da ferramenta. Para este trabalho, foram avaliadas as ferramentas de *upload*, *download* e catalogação de metadados das camadas, identificadas na plataforma como *layers*. Na interface principal de busca por *layers*, são exibidas àquelas que são acessíveis ao usuário conectado. Essa lista de *layers* pode ser filtrada considerando diferentes tipos de metadados, tais como palavras-chave, categorias, proprietários, data e extensão geográfica, dentre outras (Figura 1).

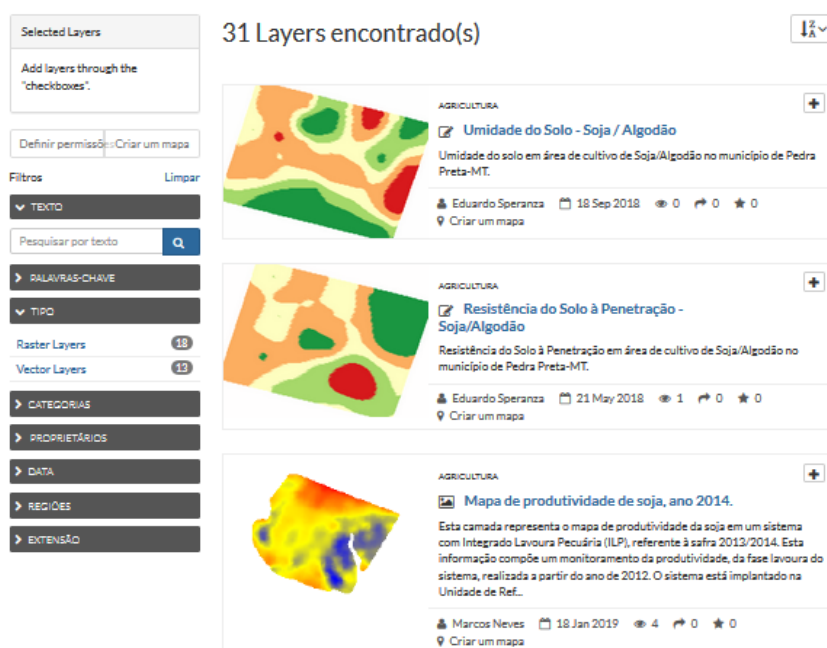


Figura 1. Interface de busca por *layers* disponível no repositório de dados da Rede AP.

Ao visualizar a página de uma *layer*, o usuário tem acesso à diversas informações e funcionalidades que podem ser executadas para o conjunto de dados georreferenciado escolhido, tais como metadados básicos, edição e download de dados, estilos e metadados, criação de mapas e gerenciamento de permissões de acesso (Figura 2).

As camadas vetoriais a serem inseridas na plataforma GeoNode devem estar preferencialmente no formato Shapefile<sup>1</sup>. Entretanto, arquivos texto com campos e valores separados por vírgula (CSV<sup>2</sup>) também são aceitos, desde que contenham campos com as geometrias associadas aos dados. Já as camadas matriciais devem estar no formato GeoTiff (RITTER e RUTH, 1997), tradicionalmente utilizado por imagens de sensoriamento remoto e suborbital.

<sup>1</sup> Shapefile: Especificação aberta de arquivo para dados geoespaciais vetoriais, desenvolvida pela ESRI (EUA).

<sup>2</sup> CSV: formato de arquivo texto regulamentado para armazenar dados em linhas com campos separados por vírgula.

### Índice de Vegetação NDRE - Cana-de-açúcar

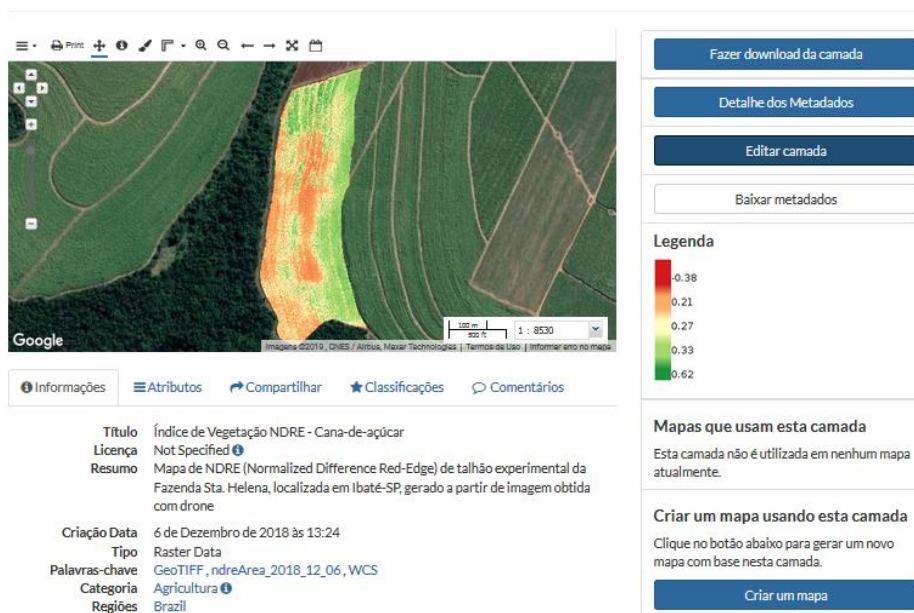


Figura 2. Página específica de funcionalidades, dados e metadados de uma *layer*.

### 3. Resultados e Discussão

De uma maneira geral, a usabilidade da plataforma GeoNode se mostrou satisfatória com relação à organização dos dados georreferenciados produzidos nas pesquisas da Rede AP. A ferramenta de *upload* de *layers* é bastante intuitiva, pois fornece ao usuário diferentes maneiras de realizar a operação, seja por meio da escolha dos arquivos, ou por uma funcionalidade do tipo “selecionar e arrastar”. Também durante o *upload*, o usuário pode já definir as permissões para outros usuários ou grupos de usuários para diferentes operações relacionadas com a *layer*, tais como visualização, download, edição de dados e metadados, edição de estilos e publicação. Uma funcionalidade extremamente útil é a possibilidade de realizar, simultaneamente ao *upload* dos arquivos da *layer*, um arquivo padronizado de estilos, no formato SLD (LALONDE, 2002), fazendo com que a *layer* já seja publicada com intervalos de classificação e cores pré-definidos pelo autor por meio de um Sistema de Informações Geográficas (SIG). Essa funcionalidade é importante para melhorar a usabilidade do sistema quanto ao estilo das *layers*, uma vez que a ferramenta de edição disponível na plataforma GeoNode não realiza classificações automáticas como em um SIG. Nesse caso, é necessário que cada classe seja definida manualmente pelo usuário, tornando essa tarefa extremamente dispendiosa dependendo da quantidade de classes.

Após o *upload* da camada, a plataforma GeoNode também sugere ao usuário o preenchimento dos metadados por meio de um assistente (Figura 3). O padrão de metadados utilizado se baseia na norma ISO 19115 (KRESSE e FADAIE, 2004), que além dos campos convencionais de identificação de autoria, propriedade intelectual e qualidade dos dados (obrigatórios), também possui campos opcionais relacionados a informações complementares, frequência de manutenção dos dados e tipos de geometria espacial.

A ferramenta de *upload* da plataforma GeoNode apresenta bom desempenho tanto para dados vetoriais quanto para dados matriciais. Com uma conexão de rede satisfatória, é possível realizar *upload* de imagens com mais de um gigabyte de tamanho em disco em poucos minutos. Os dados são armazenados seguindo o padrão utilizado pelo GeoServer. As *layers* compostas por dados vetoriais são armazenadas em banco de dados relacional, enquanto que as *layers* compostas por imagens são armazenadas como arquivos diretamente no sistema operacional do servidor, apesar de o SGBD PostgreSQL com extensão espacial PostGIS já possuir suporte para dados matriciais,



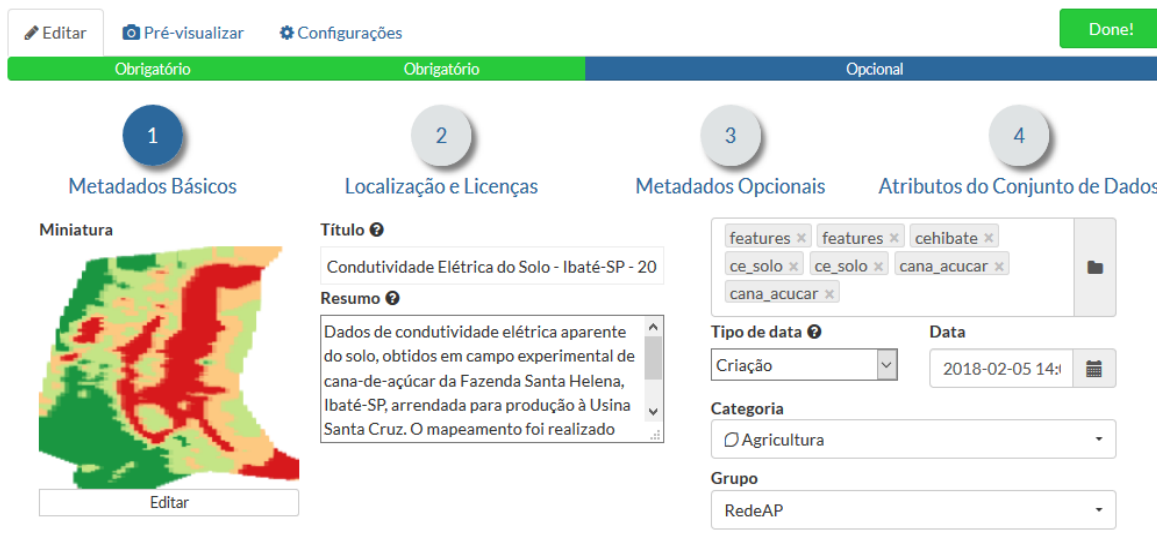


Figura 3. Assistente para preenchimento de metadados da plataforma GeoNode

A ferramenta de download apresenta diferentes possibilidades. Usuários com perfil apenas de visualização para uma determinada *layer* poderão realizar o download apenas de imagens estáticas do seu mapa a partir do estilo definido, em formatos conhecidos como JPEG, PNG e PDF. Essas imagens são geradas a partir de requisições WMS (*Web Map Service*) (DE LA BAUJARDIERE, 2006), serviço disponível no GeoServer e padronizado pelo *Open Geospatial Consortium* (OGC) para geração de mapas estáticos a partir de dados georreferenciados.

Já os usuários com perfil de download podem obter os dados da *layer* em diferentes formatos, para *layers* vetoriais (Shapefile compactado, GML, CSV, Excel e GeoJSON) e matriciais (GeoTiff e GZIP). O procedimento de download para dados vetoriais gera uma requisição WFS (*Web Feature Service*) (PERCIVAL, 2008) ao servidor de aplicação, onde o arquivo de saída é reconstruído a partir dos dados armazenados no servidor. No contexto da rede AP, essa operação é normalmente pouco custosa para dados vetoriais, pois tratam-se de conjuntos de dados com apenas alguns megabytes de espaço em disco ocupados. Para dados matriciais, o procedimento é realizado a partir de uma requisição WCS (*Web Coverage Service*) (EVANS, 2003) ao servidor de aplicação. Apesar de estudos como o desenvolvido por Giuliani et al. (2013) mostrarem um desempenho satisfatório do padrão WCS em recuperar imagens georreferenciadas, os mesmos foram realizados utilizando imagens com resoluções espaciais muito baixas, próximas de 1 km. No caso das imagens obtidas a partir de aeronaves remotamente pilotadas (ARPs) contendo múltiplas bandas espectrais - atividade bastante comum no âmbito da Rede AP -, essa operação de download torna-se extremamente custosa, pois esse tipo de imagem combina a altíssima resolução espacial com o volume de armazenamento em disco (acima de 1 GB), dificultando a sua remontagem por meio do serviço WCS. Em alguns experimentos realizados, o tempo dispendido para essa operação foi muito maior do que o tempo de download propriamente dito, o que faz com que o ferramental disponibilizado pela plataforma GeoNode seja insuficiente para o compartilhamento de imagens com esse nível de resolução espacial.

#### 4. Conclusões

A partir dos experimentos realizados com a plataforma GeoNode para o repositório de dados da Rede AP, é possível concluir que a plataforma atende parcialmente às demandas do projeto com relação ao compartilhamento de dados de pesquisa. A ferramenta possui diversas funcionalidades para armazenamento, recuperação e edição de dados vetoriais. Entretanto, para dados matriciais, principalmente aqueles que possuem resolução espacial submétrica, dificuldades foram encontradas principalmente na operacionalização de download. Uma possibilidade a ser estudada é realizar uma adaptação para que esse tipo de imagem não seja requisitado diretamente via serviço WCS, fazendo

com que seja realizado o download direto do arquivo disponível no servidor da aplicação. Como todo ferramental de segurança e acesso aos dados da plataforma GeoNode está baseado no GeoServer, adaptações como essa devem ser realizadas com cuidado, a ponto de garantir a integridade e o acesso aos dados apenas dos usuários autorizados. Uma outra alternativa para esse tipo de dado é utilizar ferramentas específicas com soluções completas para imagens obtidas a partir de sensoriamento suborbital, como a plataforma DroneDeploy (DroneDeploy.com). Essa plataforma permite ao usuário realizar todas as operações associadas a esses dados, desde o planejamento de voo e mosaicamento a partir de imagens obtidas em missão, até a geração de mapas de índices vegetativos. Entretanto, funciona por meio de prestação de serviços, ou seja, não pode ser instalada em um ambiente de rede local, o que demanda um custo de assinatura mensal de utilização.

### Referências

- CORTI, P.; KRAFT, T.J.; MATHER, S.V.; PARK, B. PostGIS Cookbook. Packt Publishing Ltd, 2014.
- DE LA BEAUJARDIERE, Jeff. OpenGIS web map server implementation specification. Open Geospatial Consortium Inc., OGC, p. 06-042, 2006.
- EVANS, J. Web coverage service (WCS). Version 1.0.0. OGC 03-065r6. Open Geospatial Consortium. Inc., 67pp, 2003.
- FAPESP. Planos de gestão de dados se incorporam a projetos de pesquisa no Brasil. Revista Pesquisa Fapesp, ed. 260, outubro de 2017. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2017/10/25/planos-de-gestao-de-dados-se-incorporam-a-projetos-de-pesquisa-no-brasil/>> Acesso em: 18 set. 2019.
- GEONODE. Geonode – open source geospatial content management system. Disponível em <<http://geonode.org>>. Acesso em: 19 set. 2019.
- GEOSERVER. Geoserver – open source server for sharing geospatial data. Disponível em <<http://geoserver.org>>. Acesso em: 19 set. 2019.
- GIULIANI, G.; DUBOIS, A.; LACROIX, P. Testing OGC Web Feature and Coverage Service performance: Towards efficient delivery of geospatial data. Journal of Spatial Information Science, v. 2013, n. 7, p. 1-23, 2013.
- KRESSE, Wolfgang; FADAIE, Kian. ISO standards for geographic information. Springer Science & Business Media, 2004.
- LALONDE, W. (ed.), Styled Layer Descriptor (SLD) Implementation Specification 1.0.0, OGC Document 02-070, 2002.
- PERCIVAL, G. OGC Reference Model, Version 2.0 (Reference number: OGC 08-062r4). 2008.
- RITTER, N.; RUTH, M. The GeoTiff data interchange standard for raster geographic images. International Journal of Remote Sensing, v. 18, n. 7, p. 1637-1647, 1997.

**PROJETO E CONSTRUÇÃO DE UM PROTÓTIPO DE LIBS DE BANCADA COMPACTO  
PARA ANÁLISES AGROAMBIENTAIS**K. Stenio<sup>1</sup>, P. R. Villas-Boas<sup>2</sup>, D. M. B. P. Milori<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, km 235, s/n, 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: kleydson.stenio@gmail.com

**Resumo:** O agronegócio é uma atividade de grande importância para o Brasil, tendo alto impacto no PIB nacional, e para manter sua alta produtividade é vital fazer uso rotineiro de corretivos e fertilizantes. A análise do solo envolve diversos procedimentos físicos e químicos para avaliar suas características: nutrientes, teor de matéria orgânica, contaminantes e textura. A demanda da agricultura de precisão de elaboração de mapas de fertilidade exige grande número de avaliações, no entanto, ainda não há nenhuma técnica para avaliação em larga escala e a custo acessível para o produtor para realizar essas caracterizações. A Espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) é uma técnica que permite avaliar em questão de segundos a composição elementar de solos. Entretanto, sistemas LIBS comerciais não são dedicados para análises de solos e sua interface não é amigável para usuários sem formação científica. Assim, este trabalho teve como objetivo desenvolver um LIBS de bancada compacto e de fácil utilização para análise elementar de solos. Além da fabricação da plataforma LIBS, foi realizado também todo o desenvolvimento de softwares de controle e aquisição de espectros, bem como realizado um teste da resposta obtida pelo equipamento com resultados satisfatórios.

**Palavras-chave:** LIBS, espectroscopia óptica, solos, caracterização elementar.

**DESIGN AND CONSTRUCTION OF A COMPACT BENCHTOP LIBS PROTOTYPE FOR  
AGRICULTURAL ANALYSIS**

**Abstract:** Agribusiness is an activity of huge importance for Brazil with high impact on national GDP and to maintain its high productivity the use of correctives and fertilizers is vital. Soil analysis involves several physical and chemical procedures to evaluate its characteristics: nutrients, organic matter content, contaminants and texture. The demand from precision agriculture for fertility mapping requires a large number of samples, however, there is still no technique for large scale evaluation at an affordable cost for the producer to perform these measurements. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) is a technique that allows the evaluation of elemental composition for soils within seconds. However, commercial bench LIBS systems are not dedicated to soil analysis and their interface is not user friendly for unskilled users. Thus, this work aimed at developing a compact and easy-to-use benchtop LIBS for elementary analysis. In addition to the manufacture of the LIBS platform, software's has been developed for system control and spectra acquisition, as well as a usability test of equipment response with satisfactory results.

**Keywords:** LIBS, optical spectroscopy, soils, elemental characterization.

**1. Introdução**

O agronegócio é uma atividade econômica de suma importância para o Brasil, tendo nos últimos anos representado cerca de 20% do PIB nacional (CPEA, 2018). No entanto, a fertilidade do solo agrícola brasileiro é baixa, e para manter a alta produtividade é importante fazer uso rotineiro de corretivos e fertilizantes. Mesmo o PIB do agronegócio estando na casa dos trilhões de reais, seus dados poderiam ser ainda mais altos se o país dependesse menos da importação de

fertilizantes, que é em torno de 70% (ANDA, 2019). Associado ao tema econômico, à questão ambiental também gera grande preocupação, pois a ação antrópica vem alterando cada vez mais o clima no planeta, em decorrência do aumento de gases do efeito estufa na atmosfera. Dessa forma, é necessário encontrar uma convergência sustentável entre a agricultura e o meio ambiente através do monitoramento contínuo da composição química do solo.

A coleta do solo no campo é em sua maioria realizada em delineamento em blocos ao acaso para diversas profundidades (DUARTE, 1996), geralmente de 0 a 100 cm. Nos laboratórios, essas amostras são analisadas com alguma técnica de referência para análise elementar do solo, como por exemplo, Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES), Espectroscopia de Absorção atômica (AAS) e Análise Elementar (CHNS - Carbono; Hidrogênio; Nitrogênio; Enxofre). Tais equipamentos, além de difícil portabilização, geram resíduos químicos (resultantes de digestão ácida), necessitam de reagentes e neutralizantes, e demandam um longo tempo de análise.

A Espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) é uma técnica que permite avaliar em questão de segundos a composição elementar de solos com pouca ou nenhuma preparação das amostras (HERNÁNDEZ, 2011). Tal técnica tem sido utilizada com sucesso para determinar teores de carbono e matéria orgânica, nutrientes, contaminantes e determinação de textura e pH do solo (NICOLODELLI, 2014; MARANGONI, 2015; VILLAS-BOAS, 2016; FERREIRA, 2015), entretanto, sistemas LIBS comerciais não são dedicados para análises de solos e sua interface não é amigável para usuários sem formação científica.

Atuando nessa demanda, neste trabalho desenvolveu-se um LIBS de bancada compacto, podendo ser instalado em uma propriedade agrícola ou laboratórios de prestação de serviços agrônômicos. Este equipamento foi construído com o intuito de ser compacto e de fácil utilização, com um software simples para seu controle.

## 2. Materiais e Métodos

Para a fabricação do protótipo, primeiramente foram delineados quais os elementos compõem um LIBS de bancada convencional. Um esquema de um sistema LIBS pode ser visto na Figura 1.

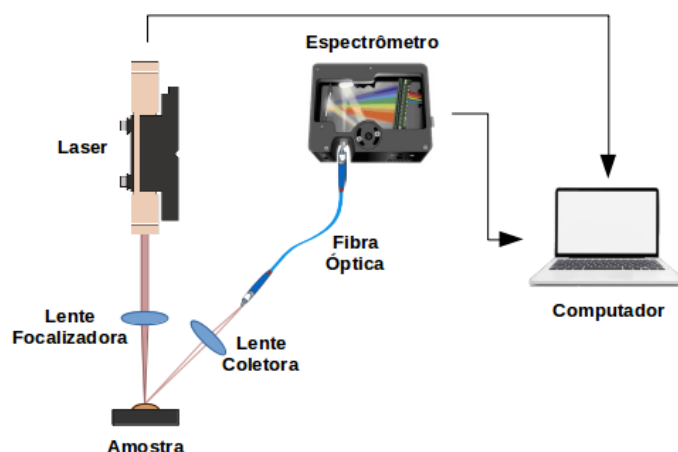


Figura 1. Esquema simplificado de um equipamento LIBS

Assim, como descrito na Figura 1, o protótipo necessitaria encapsular um laser, espectrômetro, um arranjo com lentes e fibra óptica, porta amostra, e um computador. Além desses, é necessário também adicionar uma fonte de energia para os equipamentos.

### 2.1. Equipamentos utilizados

Por ser um laser de baixo custo, consumo energético e fácil substituição, optou-se por utilizar o modelo Kigre MK-367, Nd:YAG, com pulso de 4 ns, 1064 nm, 25 mJ de energia e 1 Hz.

É focalizado na amostra por uma lente de sílica fundida biconvexa de ½ polegada de diâmetro e 25 mm de distância focal. O plasma gerado pela interação do laser com a amostra é coletado por uma lente de sílica fundida biconvexa de ½ polegada de diâmetro e 100 mm de distância focal, em um ângulo de 45° do eixo do disparo do laser, e seu sinal enviado por uma fibra óptica até o espectrômetro StellarNet EPP2000-LR, detectando emissões entre 190 a 400 nm.

Como computador utilizou-se um *Raspberry Pi 2*, associado à um monitor sensível ao toque PlayTix Spider Essence de 10,1 polegadas. Finalmente, todos os elementos são energizados por uma fonte Corsair CX-430. Os equipamentos utilizados estão dispostos na Figura 2.



Figura 2. Equipamentos utilizados no sistema: laser (a), espectrômetro (b), computador (c), monitor (d) e fonte (e)

### 2.2. Modelo 3D para fabricação do protótipo

Com todos os elementos definidos e adquiridos, foi então feito um modelo 3D para a fabricação do protótipo. Este modelo levou em consideração o volume necessário para que todos os equipamentos ficassem bem distribuídos e arejados. A Figura 3 mostra duas vistas do modelo criado, uma superior e outra ISO.

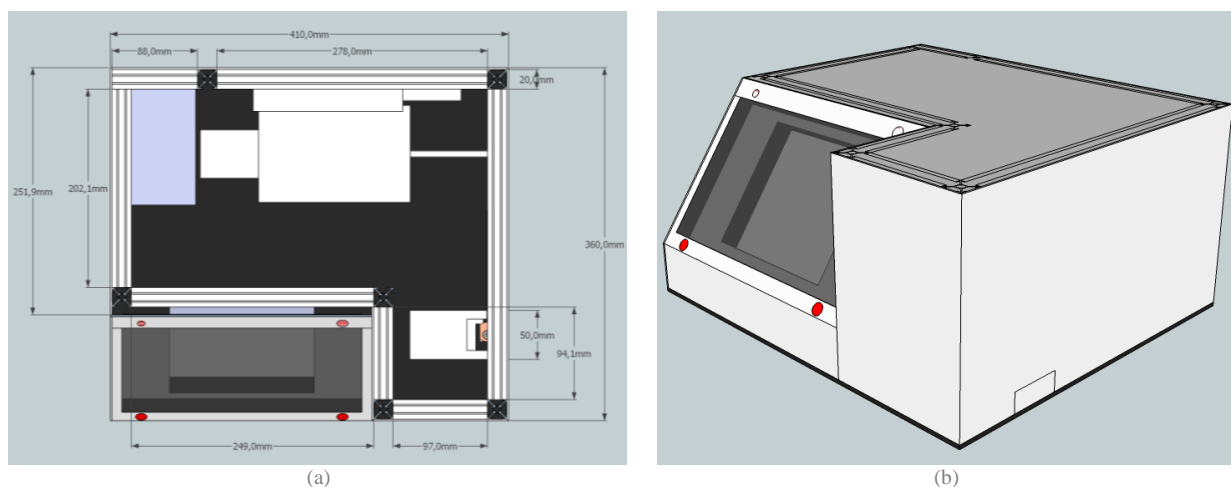


Figura 3. Vistas do projeto 3D para fabricação do protótipo: superior (a) e ISO (b)

### 2.3. Desenvolvimento de software para controle do laser e salvamento de espectros

Para controle do laser, foi utilizada uma das portas de controle do Raspberry Pi ligada à um módulo relé. Este módulo se conecta ao sistema de disparo do laser (Figura 2a). O espectrômetro é acessado via USB utilizando as bibliotecas de seu driver de código aberto para Linux.

Estes dois módulos são controlados por um terceiro programa desenvolvido para o sistema, chamado de *PyPortableLIBS*, que sincroniza o disparo do laser com a coleta do espectrômetro, realizando a medição e exibindo o espectro para o usuário na tela; ao fim, é salvo um arquivo de texto com os dados obtidos. O programa foi escrito utilizando Python 3 e a sua interface gráfica utiliza a biblioteca PyQt5.

### 2.4. Teste de obtenção de sinal

Mesmo com o software feito e o sistema executando medições, é necessário verificar se ele é

capaz de gerar modelos de calibração de interesse do agronegócio. Com este foco, foi elaborado um experimento com 7 amostras sintéticas compostas por brometo de potássio, dióxido de titânio e grafite em concentrações variando de 0 a 3%. O propósito do teste é estimar se o equipamento consegue detectar a linha de emissão de C em 247,85 nm e gerar modelos satisfatórios.

### 3. Resultados e Discussão

O sistema foi fabricado em chapas de alumínio anodizado em cor preta, e após, foram montados e fixados todos os equipamentos descritos na seção 2.1. A Figura 4 mostra como ficou a versão final do equipamento.

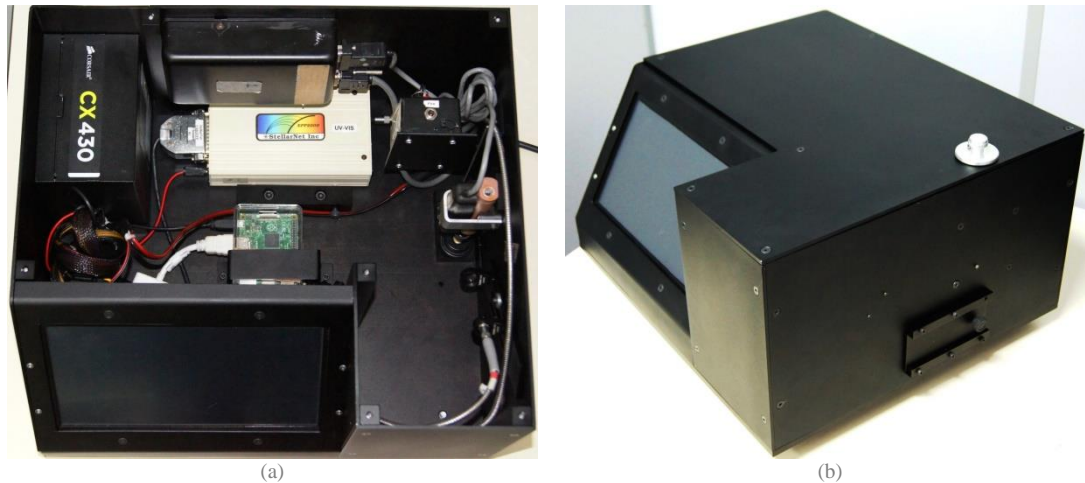


Figura 4. Protótipo finalizado: vista superior (a) e ISO (b)

Após, instalou-se o aplicativo *PyPortableLIBS* e foram realizadas medições com o protótipo. O sistema em operação pode ser visualizado na Figura 5

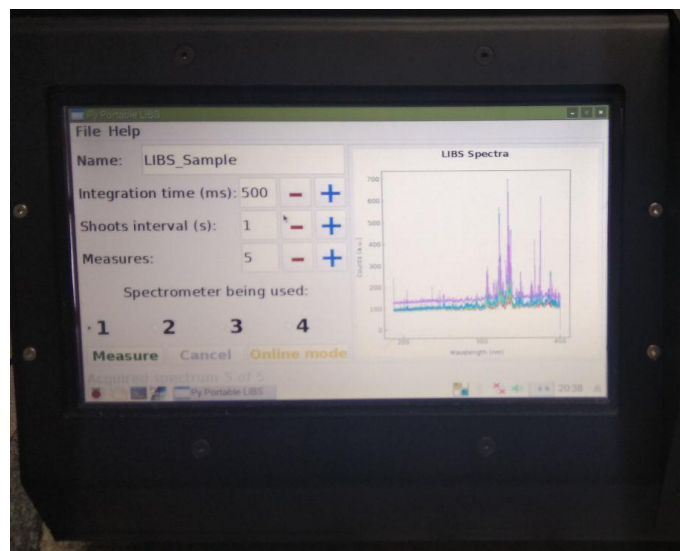


Figura 5. Tela do aplicativo *PyPortableLIBS* sendo executado no protótipo durante uma medição

Foi identificada a linha de emissão de C em 247,85 nm para cada amostra, e calculada sua área. Com os dados das áreas dos picos e sua respectiva concentração de C foi possível montar uma curva de calibração com correlação de 0,86 disposta na Figura 6.

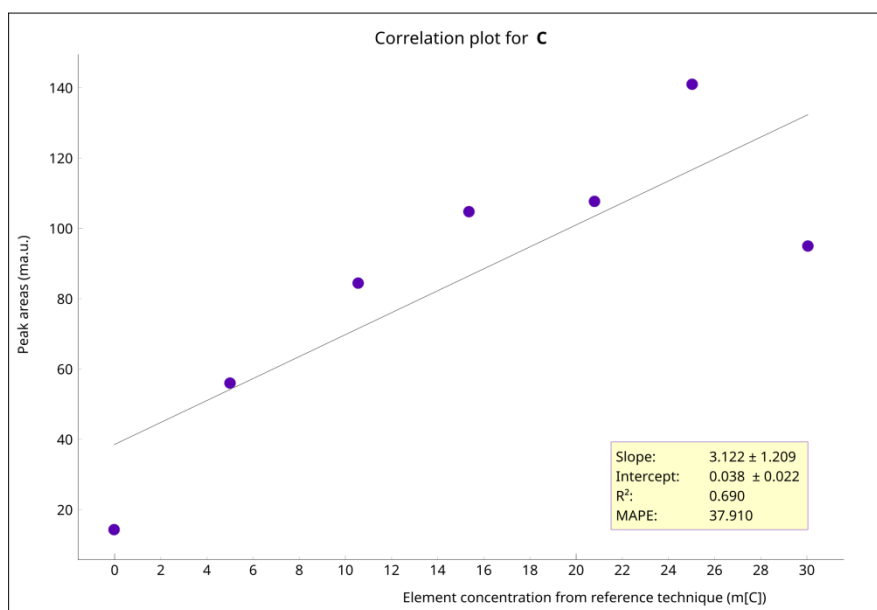


Figura 6. Modelo linear univariado gerado com as amostras de teste

#### 4. Conclusões

O presente trabalho mostra que é possível desenvolver um sistema LIBS compacto e de fácil operação para medidas agroambientais, capaz de detectar C e gerar um modelo linear satisfatório. Para trabalhos futuros, pretende-se caracterizar nutrientes em amostras de solos e fertilizantes.

#### Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, do Centro de Pesquisa em Óptica e Fotônica (CEPOF) e da Embrapa Instrumentação.

#### Referências

- ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS (ANDA); Estatísticas – Principais indicadores do setor de fertilizantes, 2019. Disponível em: < [http://anda.org.br/wp-content/uploads/2019/05/Principais\\_Indicadores\\_2018.pdf](http://anda.org.br/wp-content/uploads/2019/05/Principais_Indicadores_2018.pdf) >. Acesso em: 17 set. 2019.
- CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA (CPEA); Relatório do PIB do Agronegócio, 2019. Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>>. Acesso em: 18 set. 2019.
- DUARTE, J. B.; Princípios sobre delineamentos em experimentação agrícola, Goiânia, Goiás. Trabalho de conclusão de Curso de Especialização em Estatística, DEI-IMF/UFG, 1996.
- FERREIRA, E. C.; GOMES NETO, J. A. et al.; Laser-induced breakdown spectroscopy: Extending its application to soil pH measurements. *Spectrochimica Acta Part B* 110, 2015, p. 96–99.
- HERNÁNDEZ, R. C.; Aplicaciones de la técnica LIBS (Laser induced breakdown spectroscopy) a la caracterización de materiales, Encuentro Internacional de Investigadores en Material y tecnología do Plasma, Bucaramanga, Colombia, 2011, p. 22.
- MARAGONI, B. S.; SILVA, K. S. G. et al.; Phosphorus quantification in fertilizers using laser induced breakdown spectroscopy (LIBS): a methodology of analysis to correct physical matrix effects. *Analytical Methods*, 2015, 8, p. 78.
- NICOLODELLI, G.; MARANGONI, B. S. et al.; Quantification of total carbon in soil using laser-induced breakdown spectroscopy: a method to correct interference lines. *Applied Optics*, Nova York, v. 53, n. 10, p. 2170-2176, 2014.
- VILLAS-BOAS, P. R.; Laser-induced breakdown spectroscopy to determine soil texture: A fast analytical technique. *Geoderma* 263, 2016, p. 195-202.

## MÉTODO COMPUTACIONAL PARA OBTENÇÃO DE ÁREA FOLIAR A PARTIR DAS INTENSIDADES DE RGB EM IMAGENS DIGITAIS

L. R. Trevisan<sup>1,\*</sup>, L. Brichi<sup>1</sup>, L. P. Magalhães<sup>1</sup>, A. C. M. Lima<sup>1</sup>, T. M. Gomes<sup>2</sup>, F. Rossi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo, Avenida Pádua Dias - Agronomia, 13418-900, Piracicaba, São Paulo

<sup>5</sup> Universidade de São Paulo, Duque de Caxias Norte, 225, 13635-900, Pirassununga, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: lucas.renato.trevisan@usp.br

**Resumo:** O uso de técnicas apropriadas para determinação de características agrônômicas de planta é de interesse científico. Neste trabalho, é proposto a comparação entre as metodologias para obtenção da área foliar empregadas pelo scanner integrador de área foliar e a mensuração por métodos computacionais. No trabalho foram utilizadas folhas de pepino japonês. Para o processamento de imagens, foram segmentadas a folha e a referência em duas imagens distintas utilizando relações entre os canais azul (B) e verde (G). Um scanner integrador de área foliar também foi utilizado para obter valores de área foliar para comparação. As áreas foliares foram integradas em bateladas de 3 ou 4 folhas e as médias das áreas de cada grupo de folhas foi determinada. Posteriormente estas médias foram comparadas entre si pelo test t-student, com nível de confiança de 0,05. O valor  $R^2$  entre as medidas do integrador e do software foram de 0,72 e 0,92 para as faces adaxial e abaxial, respectivamente. Os valores de área foliar obtidas pelo integrador de área foliar não apresentaram diferença significativa em relação às médias das áreas foliares calculadas por processamento de imagens nas faces abaxiais e adaxiais provando a eficiência do método na estimativa da área foliar. Em relação ao método computacional para cálculo da área foliar, não houve diferença entre a utilização da face adaxial ou abaxial.

**Palavras-chave:** Visão Computacional, índices vegetativos, área foliar, engenharia de biosistemas

### *A COMPUTER METHOD FOR OBTAINING LEAF AREA FROM RGB INTENSITIES IN DIGITAL IMAGES*

**Abstract:** The use of appropriate techniques for determining plant agronomic characteristics is of scientific interest. This work proposes a comparison between the methodologies for obtaining the leaf area through leaf area integrating scanner and by computational methods. For this study, Japanese cucumber leaves were used. For the image processing, the leaf and reference were segmented into two distinct images using the relationships between the blue (B) and green (G) channels. A leaf area integrator scanner was also used to obtain leaf area values for comparison. The leaf areas were integrated in batches of 3 or 4 leaves and the average of the areas of each leaf group was determined. Subsequently, these averages were compared among themselves using the t-student test, with a confidence level of 0.05. The  $R^2$  value between the integrator and the software calculations were 0.72 and 0.92 for the adaxial and abaxial faces, respectively. The leaf area values obtained by the leaf area integrator did not show significant difference in relation to the leaf area averages calculated by image processing on the abaxial and adaxial faces, proving the efficiency of the method in estimating the leaf area. Regarding the computational method for leaf area calculation, there was no difference between the use of the adaxial or abaxial sides.

**Keywords:** Computer vision, vegetation indices, leaf area, biosystem engineering

### 1. Introdução

A determinação da área foliar constitui-se num aspecto fundamental para o entendimento de aspectos ligados à fisiologia de plantas, pois é através das folhas que ocorrem os processos de fotossíntese e trocas gasosas (PEREIRA et al., 1997). Além disto, a avaliação da área foliar é um bom indicativo de produtividade, avaliação de técnicas culturais, interceptação luminosa, quantificação de pragas e doenças foliares, entre outros (TAVARES-JÚNIOR et al, 2002; GODOY



et al., 2007; MORAES et al., 2013). Em plantas de pepino, a redução da área foliar pode acarretar severas perdas de produtividade pois a produção de fotossintetizados pelas folhas impacta a qualidade dos frutos produzidos (NOMURA; CARDOSO, 2000).

Os métodos de avaliação de área foliar podem ser destrutivos ou não destrutivos, de modo que os destrutivos utilizam de medições diretas das folhas ou, de maneira indireta analisam correlações entre uma variável medida e a área foliar (ADAMI et al., 2008). Dentre os métodos destrutivos são frequentemente empregados os integradores de área foliar, como o da marca LICOR® modelo LI 3100 e o método por discos foliares.

Já para os métodos não destrutivos a aquisição de imagens digitais de alta resolução tem se destacado. Neste sentido Godoy et al. (2007) compararam estas metodologias para estimativa de área foliar (AF) em laranja pêra, e concluíram que a análise de imagem foi mais precisa ao estimar a AF em relação ao integrador de área foliar. Tian e Wang (2009) também analisaram imagens digitais de folhas de pepino e verificaram maior acurácia em relação às medições realizadas pelo método de contagem em grade, pelo método de pesagem de papel e pelo integrador de área foliar LI3100.

Desta forma, objetivando mensurar a área foliar de plantas de pepino de modo acurado, preciso e rápido, foi proposto neste trabalho a comparação entre o integrador de área foliar LICOR® modelo LI 3100 e o processamento de imagens obtidas por smartphone através do software em linguagem Python.

## 2. Materiais e Métodos

A cultura utilizada para o estudo foi o pepino japonês (*Cucumis sativus* L.), cultivar Tikara (Agristar) sendo 129 folhas colhidas após o pico da colheita com a planta começando a senescer. Para cada uma das folhas obtiveram-se imagens da face adaxial e abaxial (frente e verso), gerando um total de 258 imagens. As folhas foram dispostas em um fundo rosa e um quadrado branco de área conhecida, igual a 9 cm<sup>2</sup>, foi mantido ao lado das folhas nas imagens para calibração (Figura 1a). As imagens foram obtidas sob iluminação ambiente e utilizando-se um smartphone (MOTOROLA G5S PLUS, câmera de 13 megapixels).

Todo processamento das imagens foi realizado em Python no espaço RGB (vermelho, verde e azul) de cores. Um novo método para obtenção da área foliar foi proposto, baseado em princípios apresentados por Easlou e Arnold (2014), consistindo em segmentar folha e a referência em duas imagens distintas utilizando relações entre os canais azul (B) e verde (G). Estudos preliminares demonstraram que uma região da imagem, a que contém os pixels da folha, apresenta grande intensidade de verde e baixa intensidade de azul (próximo a zero). O canal vermelho da imagem não foi utilizado para segmentação.

Assim, foi desenvolvido um índice, GB, obtido pela divisão da intensidade de verde de cada pixel da imagem por sua respectiva intensidade de azul de mesmas coordenadas. Como as intensidades de verde são muito maiores do que as intensidades de azul nos pixels pertencentes à folha, GB deve ser maior nestas regiões e menores em regiões do *background*. Estudos iniciais mostraram então que o limiar GB = 1.2 foi adequado para separar pixels pertencentes ao *background* da imagem daqueles pertencentes à folha. Pixels abaixo do limiar receberam valor de intensidade 0, enquanto pixels iguais ou acima receberam intensidade 255. Dessa forma, foi possível determinar a quantidade de pixels pertencentes à folha na imagem.

Para segmentação da área de referência, a imagem original foi convertida em escala de cinza, binarizada e a quantidade de pixels da referência foi determinada. Como a área real da referência era conhecida, foi realizada uma conversão simples para determinação da área de um pixel na imagem. A área de um pixel foi utilizada para converter o número de pixels da folha em sua área real em cm<sup>2</sup>. O processamento foi repetido para as faces adaxial e abaxial das imagens.

Um integrador de área foliar (LI-COR®, modelo LI 3100) foi utilizado para obter valores de área foliar para comparação. As áreas foliares foram integradas em bateladas de 3 ou 4 folhas, sem distinção entre face abaxial e adaxial, e a média de cada batelada foi determinada. As áreas foliares

obtidas por processamento das imagens foram igualmente agrupadas em grupos de 3 ou 4 folhas seguindo a mesma ordem utilizada no integrador, e a média das áreas foi também determinada. As médias das áreas foliares obtidas pelo integrador e pelo processamento das imagens das faces adaxial e abaxial das folhas foram comparados entre si para identificar significância pelo test t-student com nível de confiança de 0,05 (Tabela 1). O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi utilizado para a análise do ajuste da regressão linear entre as medidas obtidas pelo integrador e os valores obtidos pelo software utilizando as faces adaxial e abaxial das folhas.

### 3. Resultados e Discussão

O método de segmentação se mostrou adequado para separar as informações contidas na imagem (Figura 1b), não sofrendo interferências devido à artefatos (fundo, sujeira etc.).

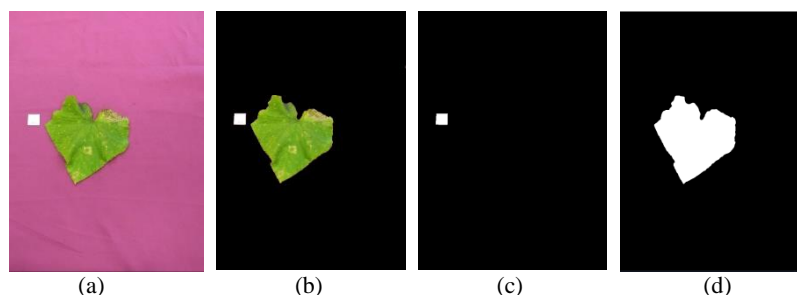


Figura 1. Processamento das imagens das folhas. a) imagem original. b) *background* removido. c) segmentação da referência. d) segmentação da folha.



Figura 2. Variabilidade das imagens da face adaxial das folhas. Imagens selecionadas aleatoriamente



Figura 3. Variabilidade das imagens da face abaxial das folhas. Imagens selecionadas aleatoriamente.

Tabela 1. Valores de área foliar medida de três formas diferentes (em  $\text{cm}^2$ ).

índice	n° folhas	Integrador	Face adaxial	Face abaxial
1	4	263,05	262,64	272,87
2	4	283,96	311,71	304,04
3	4	307,41	331,28	321,17
4	3	226,34	230,64	235,46
5	4	340,58	360,39	368,84
6	3	271,38	278,85	283,91
7	3	224,93	235,20	244,64
8	3	285,93	300,78	303,13
9	3	269,49	277,89	283,57

10	3	208,68	216,42	229,17
11	3	265,35	272,64	284,49
12	3	209,52	211,60	220,75
13	4	208,72	202,90	226,75
14	4	202,94	209,19	211,70
15	2	185,39	197,73	125,79
16	3	263,54	279,66	280,20
17	3	214,99	225,54	240,19
18	3	326,62	213,85	344,27
19	4	285,53	293,06	305,94
20	3	319,99	331,89	338,82
21	4	234,18	246,22	255,08
22	3	308,28	324,44	325,49
23	3	283,56	302,21	302,34
24	3	415,79	447,22	426,90
25	4	215,77	222,60	229,46
26	4	349,34	350,88	358,70
27	3	286,02	304,10	311,55
28	4	246,02	259,94	259,92
29	3	274,04	288,13	297,39
30	4	296,33	295,23	279,92
32	3	287,50	311,75	294,49
33	4	332,88	323,26	332,63
35	3	183,28	149,56	150,70
36	4	297,04	450,04	315,54
37	3	275,70	275,61	277,26
38	4	280,69	284,52	289,66
39	4	235,75	269,85	237,05
40	3	290,28	299,02	317,65

Medias±desvio padrão<sup>#</sup> 269,92 ± 49,17 a 280,22 ± 61,23 a 281,25 ± 56,37 a

<sup>#</sup>letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as médias pelo teste t de student ( $p < 0,05$ ).

A aquisição e processamento das imagens da face adaxial e abaxial das folhas mostrou que existe uma maior variabilidade de intensidades na face adaxial em relação à face abaxial (Figuras 2 e 3), fato que corrobora com o maior desvio padrão nos valores de área foliar medida com imagem adaxiais da folha (Tabela 1). Este resultado indica que para um processo de automatização da limiarização no processamento das imagens, a utilização da face abaxial se demonstra mais apropriada devido à sua menor variância nos resultados. Uma análise visual das imagens obtidas (Figuras 2 e 3) permite perceber as diferentes variabilidades nas intensidades das folhas.

Por fim, os valores de área foliar obtidas pelo integrador de área foliar não apresentaram diferença significativa em relação às médias das áreas foliares calculadas por processamento de imagens nas faces abaxiais e abaxiais, provando a eficiência do método na estimativa da área foliar. Em relação o software, não houve diferença entre utilizar a face adaxial ou abaxial para determinação da área foliar, apesar do maior desvio padrão apresentado pela face adaxial (Tabela 1). O coeficiente de determinação da regressão linear entre os valores de área foliar obtidos pelo integrador e pelo software utilizando imagem da face adaxial foi  $R^2 = 0,72$ , ao passo que a regressão entre o integrador de área foliar e o software utilizando a face abaxial da folha apresentou  $R^2 = 0,92$ .

#### 4. Conclusões

O presente trabalho avaliou um novo método para obtenção da área foliar de pepino utilizando imagens RGB obtidas por um smartphone e realizou uma comparação entre os valores obtidos por processamento computacional de imagens abaxiais e adaxiais das folhas com os resultados obtidos em um integrador de área foliar. Os resultados mostram que através do processamento de imagens é possível estimar a área foliar de forma adequada e confiável, uma vez que não houve diferença significativa entre o método computacional e o integrador ao estimar a área foliar da face adaxial e abaxial, embora as imagens obtidas da face adaxial das folhas tenham apresentado maior variabilidade em seus resultados do que aqueles obtidos com imagens da face abaxial ou pelo integrador. Para um processo automatizado de limiarização, recomenda-se a utilização de imagens da face abaxial de folhas de pepino.

#### Agradecimentos

À CAPES, aos membros do GEBio – Sistemas e Engenharia da FZEA/USP e aos professores e funcionários dos Departamentos de Engenharia de Biosistemas da ESALQ/USP e da FZEA/USP.

#### Referências

- ADAMI, M. et al. Estimativa de área de folíolos de soja usando imagens digitais e dimensões foliares. **Bragantia**, v. 67, n. 4, p. 1053 – 1058, 2008.
- EASLON, H. M.; BLOOM, A. J. Easy Leaf Area: Automated digital image analysis for rapid and accurate measurement of leaf area. **Applications in plant sciences**, v. 2, n. 7, 2014.
- MORAES, L. et al. Avaliação da área foliar a partir de medidas lineares simples de cinco espécies vegetais sob diferentes condições de luminosidade. **R. bras. Bioci.**, Porto Alegre, v. 11, n. 4, p. 381-387, 2013
- NOMURA, E. S.; CARDOSO, A. I. I. Redução da área foliar e o rendimento do pepino japonês. **Scientia Agricola**, v.57, n.2, p.257-261, 2000.
- PEREIRA, A.R. et al. Evapo(transpi)ração. Piracicaba: FEALQ/ESALQ/USP, 1997. 70p.
- GODOY, L. J. G. et al. Análise da imagem digital para estimativa da área foliar em plantas de laranja “pêra”. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 29, n. 3, p. 420-424, 2007.
- TAVARES-JÚNIOR, J. E. et al. Análise comparativa de métodos de estimativa de área foliar em cafeeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 2, 199-203, 2002.
- TIAN, Y.; WANG, X. Analysis of leaf parameters measurement of cucumber based on image processing, World congress on software engineering, p. 34-37, 2009.

**ABORDAGEM MULTIFRACTAL 3D E MICROTOMOGRÁFIA COMPUTADORIZADA DE RAIOS-X NA AVALIAÇÃO DE UM SOLO SUBMETIDO A DIFERENTES TIPOS DE MANEJO**

C. L. Tseng<sup>1\*</sup>, A. N. D. Posadas<sup>2</sup>, C. M. P. Vaz<sup>2</sup>, M. Cooper<sup>3</sup>, S. Crestana<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo - Escola de Engenharia de São Carlos, Avenida Trabalhador São-carlense, 400, CEP: 13566-590, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de novembro, 1452, CEP: 13560-970, São Carlos, SP

<sup>3</sup> Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Av. Pádua Dias - Agronomia, CEP: 13418-900, Piracicaba, SP

\* Autor correspondente, e-mail: [chienlt@unionebd.com.br](mailto:chienlt@unionebd.com.br)

**Resumo:** O solo no meio ambiente é um sistema aberto e complexo, que é a base da produção de alimentos e suporte à vida. O manejo e uso atuais desse recurso estão em condições críticas para o desenvolvimento sustentável. A complexidade da estrutura do solo é constantemente modificada por diferentes práticas de manejos, ações antrópicas, ações pluviométricas, lixiviação dos nutrientes, salinização, dentre outras. As técnicas usadas para a recuperação dos solos degradados são também complexas e por sua vez precisam de indicadores na avaliação das áreas em processo de recuperação. Assim, o objetivo desse trabalho foi apresentar uma ferramenta matemática baseada na técnica multifractal como um indicador para a avaliação de um solo submetido a seis diferentes tipos de manejo. A análise multifractal em 3D foi aplicada em amostras de microtomografia de raios-x de um solo submetido aos seis tipos de manejo, solo de mata nativa (MT), solo degradado (SD), solo em recuperação (ER), solo de pastagem degradada (PD), solo de pastagem em recuperação (PR) e solo recuperado (SR). A caracterização dos diferentes manejos foi claramente distinguida pela técnica de análise multifractal, apresentando-se como uma ferramenta muito robusta na caracterização, indicador de manejo e recuperação de solos degradados.

**Palavras-chave:** solo, degradado, recuperação, multifractal, manejo.

**3D MULTI-FRACTAL APPROACH AND X-RAY COMPUTED MICROTOMOGRAPHY IN THE EVALUATION OF A SOIL SUBJECT TO DIFFERENT MANAGEMENT TYPES**

**Abstract:** The soil in the environment is an open and complex system being the basis of food production and life support. The current management and use of this resource are in critical condition for sustainable development. The complexity of soil structure is constantly modified by different management practices, anthropic actions, rainfall, nutrient leaching, salinization, among others. The techniques used for the recovery of degraded soils are also complex and in turn, need indicators in the assessment of areas under-recovery. Thus, the objective of this work was to present a mathematical tool based on the multifractal technique as an indicator for the evaluation of a soil submitted to six different types of management. The 3D multifractal analysis was applied to x-ray microtomography samples of a soil submitted to the six management types, native forest soil (MT), degraded soil (SD), recovering soil (ER), degraded pasture soil. (PD), recovering pasture soil (PR) and recovered soil (SR). The characterization of the different managements was clearly distinguished by the multifractal analysis, presenting it as a very robust tool for the characterization, management indicator and recovery of degraded soils.

**Keywords:** soil, degraded, recovery, multifractal, management

**1. Introdução**

O solo no meio ambiente é um sistema aberto e complexo, que é a base da produção de

alimentos e suporte à vida. O manejo e uso atuais desse recurso estão em condições críticas para o desenvolvimento sustentável.

A caracterização do espaço poroso de um solo fornece indicadores importantes no estudo de qualidade e vulnerabilidade de solos sujeitos a ações degradantes relacionadas às atividades humanas. A quantificação da forma, tamanho, continuidade, orientação e irregularidades dos poros pode permitir a previsão de modificações estruturais do solo induzidas por ações humanas, bem como avaliar o grau de degradação do solo devido à compactação e formação de crostas superficiais (KUNCORO et al., 2014b; PIRES et al., 2017). Nesse contexto, a caracterização em alta resolução é fundamental para avaliar a suscetibilidade do solo ao desenvolvimento radicular, erosão, armazenamento de água, capacidade de infiltração de água, entre outros.

O objetivo desse trabalho é mostrar a eficiência da técnica de análise multifractal 3D aplicada em microtomografia de raios-x de um solo submetido a seis diferentes tipos de manejo.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Descrição do modelo teórico

O conceito do modelo matemático multifractal surgiu como uma generalização a partir do modelo de geometria fractal (MANDELBROT, 1982). A análise multifractal permite detetar as variações internas de um sistema, resolvendo sua densidade local através do espectro multifractal (HALSEY et al., 1986; CHHABRA et al., 1989). A aplicação desse modelo para descrever meios poros e heterogêneos em diversas áreas. Vale a pena destacar aqui dois trabalhos realizados por Posadas et al. (2003 e 2009), dos quais caracterizaram a estrutura interna de três grupos de solo através da forma e simetria do espectro e a quantificação do fenômeno de fingering (fluxo preferencial) no interior do solo por meio das imagens de ressonância magnética (MRI).

As equações fundamentais utilizadas para este estudo são (Posadas et al., 2003):

$$f(\alpha(q)) = q\alpha(q) - \tau(q) \quad (1)$$

$$\alpha(q) = d\tau(q)/dq \quad (2)$$

$f(\alpha)$  representa dimensão fractal de um conjunto de caixas com expoente  $\alpha$ ;  $q$  é o valor de ordem do momento ( $-\infty < q < \infty$ ) e  $\tau$  é a correlação de  $q$ -enésimo expoente da ordem do momento.

A partir das equações anteriores, pode-se ainda deduzir o grau de multifractalidade ( $\Delta$ ) e de assimetria ( $A$ ) (HALSEY et al., 1986; SZCZPANIAK e MACEK, 2008):

$$\Delta = \alpha_{\max} - \alpha_{\min} = D_{-\infty} - D_{\infty} \quad (3)$$

$$A = \frac{\alpha_0 - \alpha_{\min}}{\alpha_{\max} - \alpha_0} \quad (4)$$

### 2.2. Delineamento experimental

#### 2.2.1. Obtenção das imagens micro-tomográficas

As imagens de microtomografia computadorizada de raios-x foram obtidas na Embrapa Instrumentação – São Carlos, utilizando um microtomógrafo de alta resolução modelo 1172, Skyscan (Bruker). As imagens foram reconstruídas (Figura 1) (Tseng, 2017) com o software fornecido pelo próprio fabricante e depois foram utilizadas como dados de entrada no programa NASS (Non-Linear Analysis Scaling System), desenvolvido com o apoio da empresa AgriEntech Ltda, São Carlos, SP e a Universidade de Rutgers, Departamento de Ciências Ambientais, New Jersey, USA, baseado no método canônico introduzido por Chhabra et al. (1989), Posadas et al. (2005) e Chung et al. (2008).

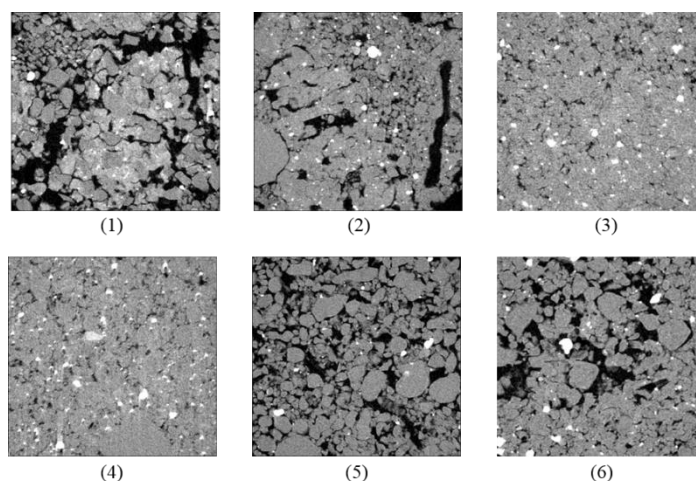


Figura 1. Microtomografia (1000x1000 pixels) de solo dos seis manejos - (1) solo de mata nativa (MT); (2) solo recuperado (SR); (3) solo em recuperação com *Astronium fraxinifolium* (Gonçaloalves) + *Brachiaria decumbens* + lodo de esgoto (ER); (4) solo degradado (SD); (5) solo de pastagem em recuperação (PR) e (6) solo de pastagem degradada (PD)

### 2.2.2. Descrição do experimento de campo

As amostras de solo foram coletadas na Fazenda Experimental da Unesp-Ilha Solteira, situada na cidade de Selvíria – Mato Grosso do Sul, às margens do Rio Paraná, onde teve a construção da Usina Hidrelétrica de Ilha Solteira na década de 80. Houve na época uma decapitação de solo de 8 metros de profundidade, desde então, o solo ficou exposto, sofrendo problemas graves de erosão. Então, com intuito de recuperar essas áreas, foram implementados trabalhos de recuperação utilizando técnicas diferentes pela universidade, nas quais foram coletadas as amostras (Figura 1) (TSENG, 2017). O solo do local é um Latossolo Vermelho Distrófico.

## 3. Resultados e Discussão

A caracterização dos diferentes manejos foi claramente distinguida pela técnica de análise multifractal em 3D, como apresentados na figura 2. Para um melhor entendimento acerca dos espectros apresentados (Figura 2), separa-se esse tópico em duas partes: 1) análise da forma das curvas dos espectros multifractais e 2) parâmetros físicos extraídos do espectro.

1) Ao considerar o solo de mata nativa (Figura 2 – a)) como amostra de referência, pode-se observar que, a forma de seu espectro é curta e achatada, isso quer dizer, aproxima-se de um monofractal, pois tanto sua parte porosa, quanto parte sólida são uniformemente distribuídas (simetria da curva). O mesmo comportamento encontra-se também nos manejos em estado de recuperação ou recuperado (Figura 2 – e) e f)), ambos manejos apresentaram a tendência de achatar sua forma e encurtar o lado direito do espectro, isto é, reduzindo a distribuição da parte sólida, característica de um solo encontrado em mata nativa. Com exceção para solo em recuperação (Figura 2 – c)), o qual ainda apresenta uma forma bem semelhante de um solo degradado, no entanto, a raiz das árvores nativas implementadas no local tem sido eficiente no processo de descompactação do solo, constatado pela tendência de redução do lado direito do espectro. Por último, o solo de pastagem degradada (Figura 2 - d) mostra um formato achatado e com o espectro bastante alongado para lado direito, em outras palavras, pouca porosidade e alta compactação.

2) Com base nos parâmetros extraídos dos espectros (Tabela 1), o valor de multifractalidade ( $\Delta$ ) dos solos de PR e SR aproximam-se do MT, isto é, as técnicas de recuperação aplicadas na área têm sido eficientes, a redução desse valor significa uma distribuição mais balanceado entre os poros e sólidos. Enquanto ER, PD são semelhantes ao D, ou seja, comportamento multifractal e complexo (TSENG, 2017). Assim como o grau de assimetria (A) mostra (Tabela 1), quando maior o valor, maior espaço poroso contém na amostra, então, mais uma vez, PR e SR apresentaram valores próximos de MT, enquanto ER e PD são semelhantes ao SD. Em termo de dimensão fractal (D0)

(Tabela 1), os valores de MT, PD, PR e SR são semelhantes, porque o agrupamento ou a conexão entre seus poros são mais simplificados do que de SD e ER, pois os micro-poros são ainda predominantes na sua estrutura. Em relação a dimensão fractal de entropia, os valores de MT, PD, PR e SR são sistemas parecidos, em outras palavras, esses fornecem quantidade de informações próximos, tendem ser mais vulneráveis aos estímulos externos, já o SD e ER são sistemas mais estáveis para responder.

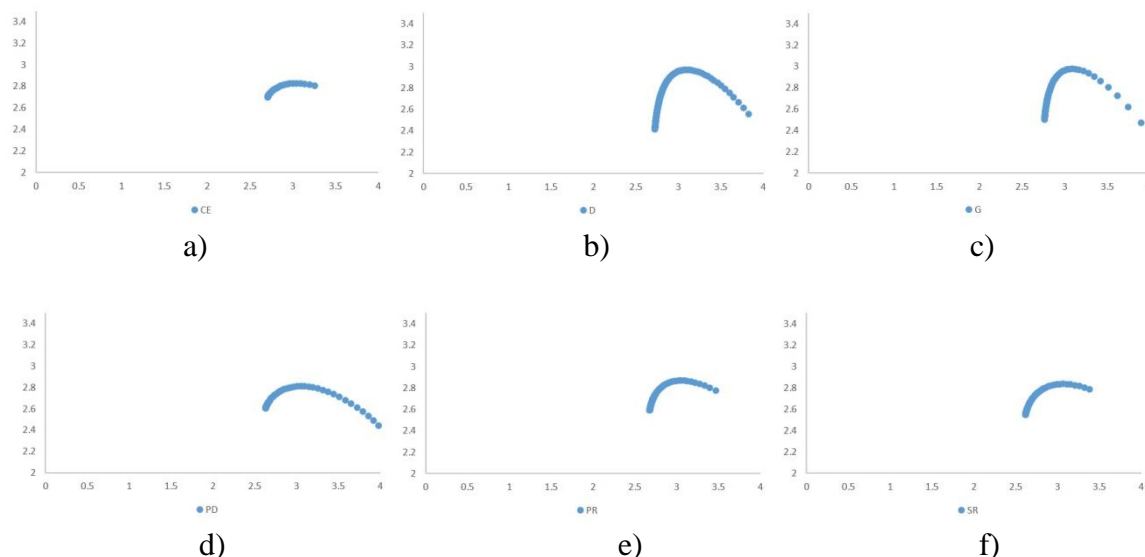


Figura 2. Espectro multifractal dos manejos – a) solo de mata nativa (MT); b) solo degradado (SD); c) solo em recuperação (ER); d) solo de pastagem degradada (PD); e) solo de pastagem em recuperação (PR); f) solo recuperado (SR).

Tabela 1. Parâmetros físicos adquiridos para os diferentes manejos

Tipos de manejo	$\Delta$	A	D0	D1
MT	0,55	1,61	2,82	2,73
SD	1,11	0,51	2,97	2,89
ER	1,13	0,40	2,97	2,90
PD	1,58	0,36	2,81	2,69
PR	0,79	1,43	2,87	2,77
SR	0,77	1,43	2,84	2,71

#### 4. Conclusões

Pode-se concluir que, a técnica da análise multifractal 3D aplicada em imagens de microtomografia computadorizada mostrou ser eficiente para caracterizar e quantificar a estrutura detalhada de diferentes manejos de solo, assim como um bom indicador de avaliação de solos em processos de recuperação e recuperados.

#### Agradecimentos

À Embrapa Instrumentação pelo fornecimento de equipamentos, ao CNPq pelo financiamento e ESALQ-USP pelo apoio técnico e à FAPESP - processo número 2018/16226-1.

#### Referências

- CHHABRA, Ashvin; JENSEN, Roderick V. Direct determination of the  $f(\alpha)$  singularity spectrum. **Physical Review Letters**, v. 62, n. 12, p. 1327, 1989.
- CHUNG et al. Morphology, lacunarity and entropy of intra-aggregate pores: Aggregate size and



- soil management effects. **Geoderma**, 146: 83-93, 2008.
- HALSEY, Thomas C. et al. Fractal measures and their singularities: The characterization of strange sets. **Physical Review A**, v. 33, n. 2, p. 1141, 1986.
- KUNCORO, P. H. et al. A study on the effect of compaction on transport properties of soil gas and water I: Relative gas diffusivity, air permeability, and saturated hydraulic conductivity. **Soil and Tillage Research**, v. 143, p. 172-179, 2014.
- MACEK, Wiesław M.; WAWRZASZEK, Anna. Multifractal structure of small and large scales fluctuations of interplanetary magnetic fields. **Planetary and Space Science**, v. 59, n. 7, p. 569-574, 2011.
- PIRES, Luiz F. et al. Soil structure changes induced by tillage systems. **Soil and Tillage Research**, v. 165, p. 66-79, 2017.
- POSADAS, Adolfo ND et al. Multifractal characterization of soil pore systems. **Soil Science Society of America Journal**, v. 67, n. 5, p. 1361-1369, 2003.
- POSADAS, A. et al. Characterizing water fingering phenomena in soils using magnetic resonance imaging and multifractal theory. **Nonlinear processes in geophysics**, v. 16, n. 1, p. 159-168, 2009.
- SZCZEPANIAK, A.; MACEK, W. M. Asymmetric multifractal model for solar wind intermittent turbulence. **Nonlinear Processes in Geophysics**, v. 15, n. 4, p. 615-620, 2008.
- TSENG, Chien Ling. **The environment qualities evaluation of a degraded area in recuperation and the drying process of a Brazilian soil using nonconventional methods at micrometric scale**. 2017. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

## ZONAS DE MANEJO A PARTIR DE ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO DE PLASMA INDUZIDO POR LASER

Pedro Henrique Vaz Valois<sup>1,\*</sup>, Júlio Cezar Franchini<sup>2</sup>, Henrique Debiasi<sup>2</sup>, Carlos Manoel Pedro Vaz<sup>3</sup>, Fabricio Bueno Correa<sup>4</sup>, Paulino Ribeiro Villas-Boas<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Física, Universidade Federal de São Carlos, 13565-905, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Embrapa Soja, 96001-970, Caixa postal 231, Londrina, PR

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, 13560-970, São Carlos, SP

<sup>4</sup> COAMO, 87308-445, Campo Mourão, PR

\* Autor correspondente, e-mail: vaz.valois@df.ufscar.br

**Resumo:** O setor agrícola e, em especial, a área de agricultura de precisão tem sido enormemente beneficiada pelos recentes avanços tecnológicos e científicos. A partir de tal modernização, é possível promover o uso mais racional de insumos, preservar e rastrear a qualidade dos produtos agrícolas e mensurar os reais ganhos econômicos e benefícios ambientais. Nesse contexto, a espectroscopia de emissão de plasma induzido por laser (LIBS) surge como ferramenta capaz de trazer qualidade e eficiência à agricultura de precisão a custos menores às análises tradicionais. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi verificar a possibilidade de construir zonas de manejo a partir de dados de LIBS. Para este estudo, foram coletadas 65 amostras de solos da região de Campo Mourão, Paraná. A partir dos espectros LIBS, 30 picos foram selecionados e usados como *features* no algoritmo *K-means*. Com esse procedimento, foram obtidos 3 *clusters* que, provavelmente, tem relação com a variação do teor de argila dos solos. Assim, com esta forma de análise de amostras de solos, foi possível gerar zonas de manejo a partir da informação espectral multi-elementar. Com base nesses agrupamentos, é possível ainda avaliar a contribuição dos elementos na produtividade agrícola do terreno.

**Palavras-chave:** LIBS, Zonas de Manejo, Agrupamento, Espectroscopia, Krigagem.

### MANAGEMENT ZONES FROM LASER INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY

**Abstract:** The agricultural sector and, in particular, the field of precision agriculture have been greatly benefited by the recent technological and scientific advances. Such modernization has enabled not only to promote a more rational use of inputs but also to preserve and track the quality of the products and to measure the real economic gains and environmental benefits. In this regard, Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) turns out to be a lower-cost tool capable of increasing the quality and efficiency of the field in comparison with traditional methods. Thus, this work aimed at developing management zones from LIBS data. For this study, 65 soil samples from Campo Mourão, Paraná were collected and, from the spectra, 30 peaks were selected as features in a K-means algorithm. From this procedure, three clusters, which most likely had a relation with the soil texture, were obtained. Thus, with this form of soil sample analysis, management zones were generated from the multi-element spectral information. Based on these groupings, it is also possible to evaluate the contribution of each element in the agricultural productivity of the land.

**Keywords:** LIBS, Management Zones, Clustering, Spectroscopy, Kriging.

### 1. Introdução

A Espectroscopia de Plasma Induzido por Laser, comumente abreviada por LIBS (do inglês, Laser-induced breakdown spectroscopy), é uma técnica analítica capaz de produzir resultados qualitativos e quantitativos que perpassou por uma vertiginosa ascensão nas três últimas décadas (CREMERS and RADZIEMSKI, 2013, p. 17). O objetivo da técnica é caracterizar um material,

seja qualitativa ou quantitativamente, indicando as espécies químicas existentes e suas respectivas concentrações. Nesse sentido, LIBS demonstrou grande potencial em análises de solo, tornando a técnica muito promissora na área de agricultura de precisão, onde pode substituir muitos métodos analíticos químicos tradicionalmente aplicados (VILLAS-BOAS et al., 2016, p. 4). Por isso, neste trabalho, busca-se inserir a técnica em outros campos de pesquisa, construindo zonas de manejo, definidas por Luchiari Junior et al. (2011) como áreas do terreno de iguais produção potencial, eficiência do uso de insumos e risco de impacto ambiental.

Afinal, frente ao método tradicional, pelo qual as zonas de manejo são construídas a partir de medidas de condutividade elétrica do solo (LUCHIARI JUNIOR et al., 2011), acreditamos que LIBS apresenta a capacidade de trazer mais informações com análises mais rápidas, abastadas em dados e com baixo custo relativo. Com esse objetivo, um mapa de 65 pontos de um terreno na região de Campo Mourão, Paraná, foi segmentado em 3 regiões. O procedimento utilizado, denominado *K-means*, trata-se de um algoritmo de *clustering* alimentado com a intensidade de 30 picos selecionados dos espectros LIBS das amostras de solo de cada um dos pontos do mapa.

Ademais, por meio de comparações com os mapas de Krigagem das análises de referência, foi possível notar forte similaridade entre a distribuição dos *clusters* e o teor de argila dos solos, um atributo do solos que mais tiveram relação com a produtividade da área, indicando provavelmente uma relação entre essas quantidades que pode ser mais rigorosamente estudada e aferida.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Amostras

As amostras utilizadas para análise na LIBS constituem um grupo de 65 amostras de solo de um lote da Fazenda Indaiá, na zona rural de Campo Mourão, Paraná. A fazenda está localizada nas coordenadas 24°3'8.1" S e 52°27'13.9" W e a distribuição amostral está conforme a Figura 1.

### 2.2. Descrição do modelo teórico

#### 2.2.1 Técnica Experimental

A técnica LIBS compreende o estudo da emissão óptica do plasma formado por meio da interação laser-matéria. O LIBS permite determinar a concentração dos elementos presentes em uma amostra, independente da sua natureza, da sua constituição ou do seu estado físico. A partir dele, é possível apresentar relações entre as características das linhas espectrais emitidas com a temperatura do plasma e com a densidade eletrônica, produzindo os dados de concentração relativa dos elementos contidos no plasma. (CREMERS and RADZIEMSKI, 2013, p. 17).

#### 2.2.2 Krigagem

A krigagem constitui-se num método de estimação linear e local, efetuado dentro de vizinhanças estacionárias, que procura interpolar pontos conhecidos em um mapa, minimizando, sem viés, o erro de estimação. Para tal, utiliza-se uma ferramenta geoestatística denominada semivariograma para modelagem da variação das características geográficas dos dados. Os semivariogramas devem apresentar uma configuração que é reflexo da regionalização da variável analisada (STURARO, 2015).

#### 2.2.3 Clustering

A análise de *clustering* (agrupamento) é uma técnica de *unsupervised learning* (aprendizado não supervisionado), que busca descobrir estruturas escondidas nos dados, e visa encontrar agrupamentos de tal forma que itens em um mesmo *cluster* (grupo) sejam mais similares entre si do que entre aqueles de outros *clusters* (RASCHKA and MIRJALILI, 2017, p. 347).

O algoritmo de *K-means* é uma técnica de *clustering* de implementação simples e computacionalmente muito eficiente se comparada a outros algoritmos da mesma categoria. Esses fatores provavelmente explicam a sua popularidade tanto na academia quanto na indústria, mas um de seus pontos negativos é a necessidade de se especificar o número *K* de *clusters* a priori. Uma escolha inapropriada para *K* pode resultar em resultados pobres de *clustering*.

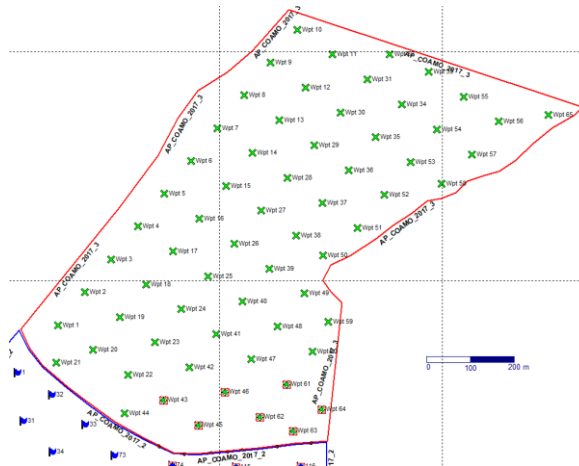


Figura 1. Distribuição das amostras de solo do lote em estudo (em verde) da Fazenda Indaiá, Campo Mourão (obtido a partir do software GPS TrackMaker®, Geo Studio Technology).

### 2.3. Delineamento experimental

O processo de confecção das pastilhas utilizou balança simples (resolução 0,01 g), pinça de aço inoxidável para catação manual, almofariz de porcelana com pistilo para trituração, peneira granulométrica de 100 mesh, pastilhadores de aço e prensa hidráulica.

Na etapa de análise, as medidas com LIBS foram realizadas com um sistema que era composto por um laser de Nd:YAG da Quantel (modelo *Brilliant*) acoplado com um módulo gerador de segundo harmônico operando com energia máxima de 180 mJ com taxa de 20 Hz para gerar pulsos na região visível. Além desse, foi usado um segundo laser de Nd:YAG da Quantel *Q-switched* 1064 nm (*Big Sky Laser Ultra*), energia máxima de 75 mJ e taxa de 20 Hz no sistema de duplo pulso em configuração de geometria colinear. Os feixes foram focados e alinhados por espelhos dicróticos para atingir o alvo sem modo de sobreposição com atrasos intercalados. O tempo de atraso foi definido em 500 ns (MENEGATTI et al., 2017, p. 3731).

Ademais, um sistema 400-Butterfly Aryelle provido de um sensor ICCD com 1024 x 1024 pixels foi utilizado para detectar e selecionar os comprimentos de onda. O espectrômetro opera em duas faixas espectrais, 175 nm - 330 nm (ultravioleta) e 275 nm - 750 nm (visível), com uma resolução espectral de 13 pm - 24 pm e 29 pm - 80 pm respectivamente. A mudança entre as faixas espectrais era realizada manualmente (MENEGATTI et al., 2017, p. 3731).

Em todos os casos, a amostra sofreu ablação na presença do ar atmosférico como gás ambiente e o plasma formado gerou emissões coletadas por uma fibra óptica.

### 3. Resultados e Discussão

A partir das medidas das 65 amostras, buscou-se realizar uma análise exploratória qualitativa nos espectros para aferir a existência das espécies químicas comuns a todas as amostras por meio da identificação das linhas persistentes dos elementos, conforme listadas na plataforma NIST. Desse método, foi possível identificar 32 linhas dos analitos Al, C, Ca, Fe, K, Mg, N, Na, Si, e Ti a partir de ao menos 2 picos persistentes. Em seguida, a intensidade das linhas selecionadas foi utilizada como *features* dos dados e, a partir delas, padrões capazes de construir mapas de zonas de manejo foram buscados. Para tal, uma matriz de amostras x contribuição, de dimensões 65 x 30, foi construída, unindo a região UV e visível, na qual a contribuição (*contr*) da linha foi definida segundo a fórmula

$$contr = \frac{\text{área do pico}}{\text{área do espectro}} \quad (1)$$

Com a padronização de todas as linhas, foi aplicado o algoritmo de *K-means* para 3 *clusters*.

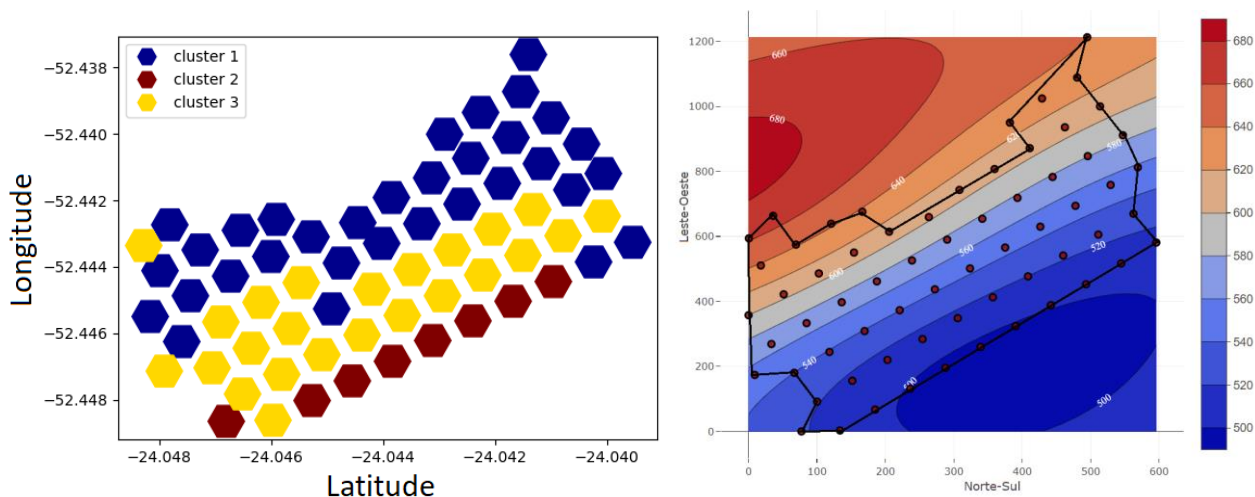


Figura 2. *Clustering* via *K-means* com 3 *clusters* a partir das matrizes UV e VIS (à esquerda) e mapa de *krigagem* dos dados de referência de argila (à direita). As linhas em preto na imagem da direita delimitam a região que se tem amostras.

O resultado do clustering na Figura 2 indica um aspecto muito importante das amostras: há concordância entre os dados do LIBS e a posição espacial dos *clusters*, i.e., apesar de não ter sido informado em momento algum a localização das amostras, o algoritmo de *clustering* encontrou proximidade entre as amostras através da contribuição das linhas. Em termos de geoestatística básica, isso é algo que pode ser visto com trivialidade: amostras próximas devem ter características similares. Entretanto, isso não é óbvio em LIBS em razão dos efeitos de matriz, o que leva à conclusão que o método foi capaz de observar similaridade nas amostras apesar de tais efeitos e, confere fortes indícios de que as matrizes em cada *cluster* são similares.

Esse resultado já permite considerar tratamentos distintos a cada uma das regiões demarcadas pelos *clusters*. Afinal, dado que a intensidade da linha de emissão está associada, ainda que de maneira não linear, com a concentração relativa do elemento na amostra, espera-se que entre as amostras de um mesmo *cluster* as concentrações dos elementos sejam próximas. Então, cada região pode ser considerada uma zona de manejo, na qual a mesma quantidade de insumos deve ser utilizada em todos os pontos contidos nela.

Por outro lado, é preciso levar em conta quais elementos químicos compõem a matriz utilizada no processo de *clustering*. Nesse caso, a maior parte da matriz é composta por Al, Fe, Mg, Ti, Ca e Si, que são espécies que compunham a maior parte do solo analisado segundo à quantificação de referência utilizada neste trabalho. Nesse sentido, é razoável esperar que o que distingue cada *cluster* é a concentração de um ou mais desses elementos. Assim, é possível comparar os *clusters* com os valores de concentração disponível de referência de apenas uma ou duas amostras de cada região e identificar qual elemento químico é invariante, sendo, portanto, menos significativo no processo de *clustering*. Nesse ponto, ressalta-se que apesar da invariância em concentração, não necessariamente há invariância na intensidade das linhas em razão dos efeitos de matriz observados em LIBS.

Em que pese tais considerações, é possível conceber um método de construção de zonas de manejo desses resultados, no qual não mais seria necessário fazer análises químicas de todos os pontos do terreno, mas de apenas alguns dentro de cada *cluster* previamente construído com LIBS.

Por fim, outro ponto que deve ser destacado sobre o resultado do clustering é a sua direção: com exceção dos outliers nas bordas clusters, ao traçar linhas separando cada cluster, vê-se uma tendência na direção noroeste-sudeste do gráfico. Assim, quando procuramos tal direcionamento nos mapas de krigagem dos dados de referência, encontra-se tendência similar apenas no mapa de argila, conforme visto na Figura 2. A comparação entre o mapa e o resultado do *clustering* na Figura 2 permite assumir uma forte relação entre as linhas consideradas e a argila segundo o algoritmo de *K-means*. Destaca-se, ademais, a forte correlação que o teor de argila possuía com a

produtividade para esse terreno, sendo o fator que melhor explicava essa grandeza. Assim, acredita-se ser possível construir zonas de manejo relacionadas diretamente com a produtividade do solo ou com outras quantidades utilizando os dados de LIBS.

#### 4. Conclusões

O presente estudo demonstrou que é possível agrupar amostras de solo a partir de dados de LIBS que pode ser usado para construir mapas de zonas de manejo. Neste estudo, mostramos que os grupos obtidos tiveram relação com o gradiente de variação do teor de argila, que foi um atributos do solos que mais tiveram relação com a produtividade da área. A vantagem do uso de LIBS se deve à grande quantidade de dados fornecida pelo espectro, o que é conveniente para técnicas de *clustering* como *K-means*. Por fim, esse trabalho demonstra uma forma de aplicação de LIBS em zonas agrícolas para uso em agricultura de precisão. A técnica proposta é mais rápida, simples e menos custosa e pode ainda fornecer resultados mais amplos em relação àquelas convencionalmente utilizadas, como a análise por condutividade elétrica do solo.

#### Agradecimentos

Ao Rodrigo Hirata pelo suporte nos experimentos. Ao suporte financeiro da FAPESP (Proc. 2016/19065-3).

#### Referências

- CREMERS, D. A. and RADZIEMSKI, L. J. Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. John Wiley & Sons, Ltd, second edition, 2013. ISBN 9781118567371.
- LUCHIARI JUNIOR, A. et al. Zonas de manejo: teoria e prática. Embrapa Instrumentação - Capítulo em livro científico (ALICE), 2011.
- MENEGATTI, C. R. et. al. Semi-quantitative analysis of mercury in landfill leachates using double-pulse laser-induced breakdown spectroscopy. Applied optics, 56(13):3730–3735, 2017.
- RASCHKA, S. and MIRJALILI, V. Python machine learning. Packt Publishing Ltd, 2017.
- STURARO, J. R. Apostila de geoestatística básica. Unesp. Departamento de Geologia Aplicada - IGCE. Rio Claro, 2015.
- VILLAS-BOAS, P. R. et al. Laser-induced breakdown spectroscopy to determine soil texture: A fast analytical technique. Geoderma, v. 263, p. 195–202, 1 fev. 2016.

**ESTUDO E MONITORAMENTO DA PERDA DE SOLO EM CONDIÇÕES CONTROLADAS, UTILIZANDO TERRAS RARAS COMO TRAÇADOR**

A. M. Watanabe<sup>1,2</sup>, A. R. S. Vivaldini<sup>4</sup>, J. M. Villela<sup>1</sup>, L. M. P. Rosalem<sup>2</sup>, C. E. M. Braz<sup>3</sup>, A. R. A. Nogueira<sup>3</sup>, E. C. Wendland<sup>2</sup>, S. Crestana<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, R. 15 de Novembro, 1451, 13560-970, São Carlos-SP

<sup>2</sup> Universidade de São Paulo, Av. Trab. São Carlense, 400, 13566-590, São Carlos-SP

<sup>3</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, Estr. Mun. Guilherme Scatena, São Carlos – SP

<sup>4</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, 13565-905, São Carlos - SP

\* Autor correspondente, e-mail: alex.amw@hotmail.com

**Resumo:** No Brasil, uma das causas de desgaste que mais colabora para a improdutividade do solo é, sem dúvida, a erosão hídrica. A erosão hídrica, de modo acelerada devida a ação antrópica é tratada globalmente, como uma das ameaças mais graves de degradação das terras atribuídas à agropecuária que leva à perda de água e solo ricos em nutrientes essenciais às plantas, podendo também elevar as perdas de solo maiores que o limite da tolerância de perda de solo, de cada área. A “Tolerância de Perda de Solo” é um termo muito utilizado na área agrônômica para direcionar o uso do solo e as práticas conservacionistas. Com o presente projeto pretendeu-se estudar o fenômeno de perda de solo com a ajuda de traçadores em condições controladas, ou seja, em laboratório. Monitoramos e avaliamos a perda de solo em um miniparcela sob chuva simulada e os resultados mostraram que foram capazes de descrever os fenômenos do processo erosivo e o deslocamento horizontal dos sedimentos.

**Palavras-chave:** erosão hídrica, traçador e perda de solo.

***STUDY AND MONITORING OF SOIL LOSS UNDER CONTROLLED CONDITIONS USING RARE EARTHS AS TRACER***

**Abstract:** In Brazil, one of the causes of erosion that contributes most to soil unproductivity is undoubtedly water erosion. Accelerated water erosion due to anthropic action is treated globally as one of the most serious threats to land degradation attributed to agriculture that leads to loss of water and soil rich in nutrients essential to plants and may also increase soil losses greater than the soil loss tolerance limit of each area. "Soil Loss Tolerance" is a term widely used in the agronomic field to direct land use and conservation practices. This project aimed to study the phenomenon of soil loss with the help of tracers under controlled conditions, ie in the laboratory. We monitored and evaluated soil loss in a mini-plot under simulated rain and the results showed that they were able to describe the erosive process phenomena and the horizontal sediment displacement.

**Keywords:** water erosion, tracer and soil loss.

**1. Introdução**

A erosão do solo é um dos problemas relevantes que atingem o equilíbrio do meio ambiente, visto que prejudica sua fertilidade e afeta extremamente as práticas agrícolas (BALASUBRAMANI et al., 2015; WANG et al., 2016). Nas regiões tropicais, a chuva é considerada a principal causa da erosão hídrica, que atua de forma natural na modelagem do relevo devido a remoção, arraste e sedimentação do solo, geralmente assoreando os corpos d'água (CÂNDIDO et al., 2014).

Nos próximos anos, a área agrícola no Brasil se expandirá, esta expansão terá efeitos adversos que incluem erosão do solo, sedimentação do reservatório, problemas de qualidade de água e perda da biodiversidade. (MERTEN; MINELLA, 2013). A “Tolerância de Perda de Solo (TPS)” é um termo

consagrado e muito utilizado na área agrônômica para direcionar o uso da terra e as práticas conservacionistas. Wischmeier e Smith (1978) a definem como a “taxa máxima de erosão anual do solo que pode ocorrer e ainda permitir um alto nível de produtividade a ser obtido economicamente e indefinidamente”.

A “Tolerância de Perda de Solo” é um termo consagrado e muito utilizado na área agrônômica para direcionar o uso da terra e as práticas conservacionistas. Wischmeier e Smith (1978) a definem como a “taxa máxima de erosão anual do solo que pode ocorrer e ainda permitir um alto nível de produtividade a ser obtido economicamente e indefinidamente”. Nota-se, por esta definição, a preocupação com a erosão do solo do ponto de vista de sua fertilidade e da manutenção do mesmo como um recurso natural necessário ao desenvolvimento vegetal.

Neste contexto o presente projeto teve como propósito estudar o fenômeno de perda de solo com a ajuda de traçadores em condições controladas, ou seja, em laboratório. Procurando-se monitorar a perda de solo e avaliar o comportamento do mesmo. Para isso foi utilizado uma miniparcela contendo traçadores marcados com os elementos terras raras (ETRs) onde foi colocada em diferentes condições de chuvas simuladas e declividades, visando acompanhar a perda de solo e de traçadores. Os resultados dados de sedimentos e escoamentos coletados após os experimentos mostraram potencial para entender melhor os processos de erosão como um fenômeno de perda de solo.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Delineamento experimental

Os ensaios foram realizados em uma microparcela com dimensões (100, 50 e 30 cm), sendo posicionada sob três declividades de 6%, 10% e 12% submetidas a quatro intensidades diferentes de chuvas 40 mm/h, 60 mm/h, 80 mm/h e 120 mm/h simuladas, ou seja, formando doze configurações distintas. Foi utilizado um simulador de chuva que possui um conjunto bomba, tanque e tubulações, além de bicos CH Magno Jet fixos em suporte posicionado a 2,5 m acima da microparcela. A microparcela foi preenchida com o neossolo quartzarênico, na qual o traçador marcador foi inserido em quantidades conhecidas na parte superior, formando uma linha, e posteriormente foram simuladas chuvas com duração de 60 minutos. Durante as simulações foram coletados amostras de sedimento e água em intervalos de 1 minuto e armazenados em recipientes adequados.

Após as simulações de chuva, a água e os sedimentos coletados serão secos em estufa e submetidos a análises químicas para determinar a quantidade de sedimentos e traçadores que chegaram até o ponto de coleta, fase atual do projeto.

#### 2.1.1. Síntese do traçador

Para a síntese da argila marcada (troca de cátions), foi utilizada uma técnica já conhecida para cátions mono e bivalente (MOORE, D. M.; REYNOLDS, R. C. J, 1997). O procedimento consistiu em adicionar 1g de montmorillonita natural a 25 ml de uma solução de Cloreto de lantânio, em um béquer por 24h. Após permanecer 24h sem agitar, o material foi centrifugado por 5min a 7000 rpm para que fosse retirado o material sobrenadante. Feito isso, uma nova solução de 25 ml de Cloreto de lantânio foi adicionada ao material centrifugado e deixado em repouso por mais 48 h. Mais uma vez o sobrenadante foi retirado por meio de uma centrifugação a 7000 rpm por 5min. Para remoção do excesso dos íons lantânio e cloreto da amostra, foram feitas inúmeras lavagens com água destilada, seguido de centrifugações, e medida a condutividade da solução. A solução de Cloreto de lantânio foi fornecida pelas Indústrias Nucleares do Brasil (INB). Trata-se de um resíduo gerado pelo processo de extração de terras raras composta por 9,4% de lantânio, 5,9% de neodímio e 1,62% de praseodímio.

#### 2.1.2. Calibração do simulador de chuvas

O equipamento simulador de chuvas de motor a passo foi ajustado de modo que a pressão da água fosse igual em todos os bicos, entre 0,9 e 1,0 bar. O suprimento de água deu-se diretamente de



um tanque de capacidade 1000 L acoplado a uma bomba d'água. A pressão foi ajustada a partir da abertura da vazão da bomba d'água.

Para calibrar a intensidade das chuvas foi colocada sob o suporte que sustentam os bicos, uma lona esticada cobrindo a superfície total de 0,5 m<sup>2</sup> da microparcela, a 2,5 metros do nível dos bicos, fazendo com que todo volume de água simulada que caísse sobre a superfície da microparcela fosse coletada e armazenada em um balde graduado.

Com o simulador ligado e os bicos aberto foi ligado o suprimento de água. Ajustou-se a pressão e então foi coletado durante 15 minutos, cronometrados a partir do início da precipitação.

Encerrada a precipitação, mediu-se o volume de água contida no balde graduado em uma proveta graduada, para maior precisão. A intensidade de precipitação foi obtida pela seguinte fórmula.

$$I = \frac{V}{t \times A} \quad (1)$$

Sendo I= intensidade da chuva em mm/h;

V= volume total coletado pela lona na superfície da microparcela em L;

t= tempo de chuva simulada em h e

A= área total da superfície da microparcela em m<sup>2</sup>.

Esse procedimento foi repedido para os quatro intensidades de chuvas, adicionando bicos e mudando suas posições para as respectivas intensidades.

Para calibrar a homogeneidade das chuvas foram colocados 98 béqueres nivelados entre si, no lugar da lona. Completando a área total da superfície da microparcela, sendo os béqueres de 7,14 cm de diâmetro e 10,0 cm de altura.

Com o simulador ligado e os bicos aberto foi ligado o suprimento de água. Ajustou-se a pressão e então foi coletado durante 15 minutos, cronometrados a partir do início da precipitação.

Encerrada a precipitação, mediu-se o volume de água contida em cada béquer em proveta graduada, para melhor precisão.

Esse procedimento foi repedido para os quatro intensidades de chuvas, adicionando bicos e mudando suas posições para as respectivas intensidades.

O coeficiente de uniformidade foi calculado pela fórmula de (CHRISTIANSEN, 1942).

$$CUC = 100 \left( 1 - \frac{\sum_{i=1}^n |X_i - \bar{X}|}{n \times \bar{X}} \right) \quad (2)$$

Sendo CUC= coeficiente de uniformidade, em %;

X<sub>i</sub>= precipitação observada em cada coletor;

$\bar{X}$ = média das precipitações e

n= número de coletores.

### 2.1.3. Tipo de solo e localização

O solo em estudo escolhido foi adquirido da fazenda São José, propriedade da Conquista Agropecuária, no município de Itirapina – SP, coordenadas UTM WGS 1984, 23K 205802 E – 75439565S (OLIVEIRA; NEARING; WENDLAND, 2015). Portanto, o tipo de solo utilizado no estudo é o Neossolo Quartzarênico, representativo da região Oeste do estado de SP (áreas de ocorrência dos sedimentos do Grupo Bauru), que apresenta textura arenosa (85% areia, 12% argila e 3% silte) (OLIVEIRA; NEARING; WENDLAND, 2015).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Sedimento e escoamento

As tabelas 1 e 2 mostram os dados coletados de sedimento e escoamentos ao final de cada simulação de 1 hora, para cada configuração de intensidade de chuva e declividade. Podemos notar

a homogeneidade nos dados de escoamento para cada simulação de chuva, mostrando a estabilidade do simulador de chuvas. Já os dados de sedimento não seguem uma linearidade isso devido a complexidade dos processos erosivo.

Tabela 1. Dados de sedimentos para cada configuração com duração de 1 hora de simulação.

Gramas		%		
		6	10	12
mm/h	40	49,85	203,11	529,04
	60	238,41	603,93	1130,04
	80	210,45	644,88	804,53
	120	347,88	1088,77	2316,85

Tabela 2. Dados de escoamento para cada configuração com duração de 1 hora de simulação.

Litros		%		
		6	10	12
mm/h	40	18,53	18,75	18,39
	60	28,44	28,90	28,43
	80	39,24	37,16	34,84
	120	61,08	61,26	60,09

### 3.2. Traçador terras raras

A tabela 3 mostra os teores de terras raras incorporado na argila, quantificado pela técnica ICP-OES, confirmando a incorporação da assinatura química (ETRs).

Tabela 3. Teores de terras raras presente no traçador

	Traçador
La (%)	1,51 ± 0,03
Nd(%)	2,10 ± 0,04
Pr(%)	0,59 ± 0,10

### 3.3. Calibração do simulador de chuvas

A tabela 4 mostra os dados de intensidade e homogeneidade calculados pela eq. (1) e (2) respectivamente. Apresentando coeficientes de uniformidades superiores a 80%, segundo (CHRISTIANSEN, 1942) podem ser considerados como precipitações de boa distribuição espacial, atingindo por igual toda a extensão da parcela.

Tabela 4. Intensidade e homogeneidade das quatro chuvas calibradas

	Intensidade (mm/h)	Homogeneidade (%)
Chuva 1	41	85
Chuva 2	60	83
Chuva 3	81	85
Chuva 4	121	87

## 4. Conclusões

Podemos concluir que os resultados obtidos a partir da técnica de ICP-OES do traçador confirmam a incorporação da assinatura química na argila, mostrando apresentar uma assinatura química.

Já o simulador de chuva alcançou as intensidades propostas e apresentou coeficientes de uniformidades superiores a 80%, ou seja, concluindo ser um ótimo simulador.

Por fim concluímos através dos dados coletados de sedimentos e escoamentos a

complexidade dos processos erosivos.

### Agradecimentos

Agradeço à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante o período de realização deste projeto. Também à EMBRAPA Instrumentação, EMBRAPA Pecuária Sudeste e ao Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento da USP São Carlos, pela infraestrutura cedida.

### Referências

- AMORIM, R. S. S. et al. Evaluation of the performance of the USLE, RUSLE and WEPP soil erosion models for different edaphoclimatic conditions in Brazil. **Engenharia Agrícola**, v. 30, n. 6, p. 1046–1049, dez. 2010.
- BALASUBRAMANI, K. et al. Estimation of soil erosion in a semi-arid watershed of Tamil Nadu (India) using revised universal soil loss equation (rusle) model through GIS. **Modeling Earth Systems and Environment**, n. Volume 1, Issue 3, 4 jul. 2015.
- CÂNDIDO, B. M. et al. Erosão hídrica pós-plantio em florestas de eucalipto na bacia do rio Paraná, no leste do Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 5, p. 1565–1575, out. 2014.
- CHRISTIANSEN, J. E. Irrigation by sprinkling. University of California Agricultural Experiment Station. **Bulletin**, v. 670, p. 124, 1942.
- MERTEN, G. H.; MINELLA, J. P. G. The expansion of Brazilian agriculture: Soil erosion scenarios. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 1, n. 3, p. 37–48, 1 dez. 2013.
- MOORE, D. M.; REYNOLDS, R. C. J. (1997), **X-Ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals, 2ed.; Oxford University Press: Oxford, NY; p 378.**
- NEARING, M. A.; DEER-ASCOUGH, L.; LAFLÉN, J. M. Sensitivity analysis of the WEPP hillslope profile erosion model. **Transactions of the ASAE**, v. 33, n. 3, p. 839–849, 1990.
- OLIVEIRA, P. T. S.; NEARING, M. A.; WENDLAND, E. Orders of magnitude increase in soil erosion associated with land use change from native to cultivated vegetation in a Brazilian savannah environment. **Earth Surface Processes and Landforms**, v. 40, n. 11, p. 1524–1532, 2015.
- WANG, Y. et al. Impact of tillage erosion on water erosion in a hilly landscape. **Science of the Total Environment**, v. 551, p. 522–532, 2016.
- WISCHMEIER, W. H.; SMITH, D. D. **Predicting rainfall-erosion losses from cropland east of the Rocky Mountains: Guide for selection of practices for soil and water conservation.** [s.l.] Agricultural Research Service, US Department of Agriculture Washington DC, 1965. v. 282

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA A QUANTIFICAÇÃO DE POTÁSSIO EM AMOSTRAS DE SOLO SOB APLICAÇÃO DE SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DE CANA-DE-AÇÚCAR UTILIZANDO LIBS**A. A. P. Xavier<sup>1,2,\*</sup>, J. E. Corá<sup>3</sup>, D. M. B. P. Milori<sup>1</sup><sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP<sup>2</sup> IQSC-USP, Av. Trab. São Carlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP<sup>3</sup> Universidade Estadual Paulista, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP\* Autor correspondente, e-mail: [alfredoapxavier@gmail.com](mailto:alfredoapxavier@gmail.com)

**Resumo:** A Espectroscopia de Emissão em Plasma Induzido por Laser (em inglês, LIBS) é uma técnica instrumental que vem ganhando destaque devido as vantagens de medidas rápidas, baixo custo e reduzida geração de resíduos em relação a técnicas tradicionais como ICP-OES e AAS. O objetivo desse trabalho foi a construção de modelos de quantificação para potássio em amostras de solo tratadas com resíduos do processamento de cana-de-açúcar. Utilizou-se a AAS com técnica de referência. Para as medidas LIBS, utilizou-se um sistema LIBS-DP, composto por dois lasers pulsados em conformação colinear (Nd:YAG 1064nm (50mJ) e 532 nm (180mJ)). O sistema utiliza um espectrômetro “echelle” para a detecção. Através do gráfico de correlação, ficou evidente a queda de correlação conforme se aproxima do ápice do pico, nos dando indicativos de reabsorção. Para contornar essa situação trabalhou-se com a integral parcial do pico até o ponto em que o coeficiente de correlação apresentou tendência de aumento. As áreas parciais foram então correlacionadas aos valores obtidos pela técnica de referência, o que gerou as curvas de calibração com R em torno de 0,7. Para a validação foram utilizadas amostras externas ao grupo de calibração, resultando erro médio de predição de 25%.

**Palavras-chave:** Espectroscopia de Emissão em Plasma Induzido por Laser; Espectroscopia de Absorção Atômica; Cana-de-açúcar; Indústria Sucroalcooleira; Solo.

**DEVELOPMENT OF METHODS FOR POTASSIUM QUANTIFICATION IN SOIL SAMPLES UNDER APPLICATION OF SUGARCANE BYPRODUCT PROCESSING USING LIBS**

**Abstract:** Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) is an instrumental technique that has been expanded through to the advantages such as fast measurement, low cost and reduced waste generation over traditional techniques such as ICP-OES and AAS. The aim of this study was to develop a method to quantification for potassium in soil samples with application of sugarcane processing byproducts. AAS was used with reference technique. For LIBS measurements, it was used a LIBS-DP system, consisting of two collinearly pulsed lasers (Nd: YAG 1064nm (50mJ) and 532 nm (180mJ)), were used for detection. The system uses an “echelle” spectrometer for detection. Through the correlation graph, it was evident the decrease in correlation when approaching the apex of the peak, generating the hypothesis of resorption. To avoid this situation, we worked with the partial integral of the peak to the point where the correlation coefficient showed rising trend. The partial areas were correlated to the values obtained by the reference technique, which generated the calibration curves with R around 0.7. For validation, samples outside the calibration group were used, resulting in a mean prediction error of 25%.

**Keywords:** Laser Induced Breakdown Spectroscopy; Atomic Absorption Spectroscopy; Sugarcane processing; Soil.

## 1. Introdução

Atualmente existem técnicas bem estabelecidas para quantificações de nutrientes em solos, 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). Porém, existem desvantagens nessas determinações por demandarem 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 (PENG, LIU *et al.*, 2016).

A Espectroscopia de Emissão em Plasma Induzido por Laser (*Laser Induced Breakdown Spectroscopy*, LIBS) é uma técnica espectroanalítica relativamente nova que emprega 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. Aliada 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, ou seja, sem a necessidade da realização de extração e/ou fracionamento químico do solo, 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* (SEGNINI, XAVIER *et al.*, 2014).

Abrangendo as novidades sobre a instrumentação da técnica LIBS, também podemos citar os desenvolvimentos sobre sistemas duplo-pulso, (LIBS-DP) 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 ( $\Delta t$ ), com o objetivo de atingir a amostra e re-excitar a região onde o plasma foi formado a partir do primeiro pulso. 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).

O presente trabalho levou como objetivo desenvolver métodos limpos, utilizando a técnica LIBS-DP para quantificação de potássio em amostras de solo inteiro tratados com resíduos da indústria sucroalcooleira. Para a construção do modelo, utilizou-se a AAS como técnica de referência para a caracterização prévia das amostras.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Descrição e preparo das amostras

Foram utilizadas amostras de um único tipo de solo, Latossolo Vermelho Eutrófico – LVE, sob a aplicação de subprodutos do processamento de cana-de-açúcar, tais como torta de filtro (TF) e cinzas de bagaço de cana-de-açúcar (CBCA) e seus compostos a um único tipo de solo em uma dose única proporcional a  $40 \text{ Mg ha}^{-1}$ , totalizando 84 amostras. O solo foi seco ao ar e à temperatura ambiente e o 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 as medidas espectroscópicas de LIBS, as amostras de solos previamente moídas foram prensadas em pastilhas de 500 mg. Para as determinações de AAS, utilizou-se o método de digestão ácida baseado no USEPA 3050B, realizado em bloco digestor aberto.

### 2.1. Descrição do aparato

As amostras foram submetidas à análise em um sistema LIBS-DP constituído por dois lasers na conformação colinear, ambos de Nd:YAG pulsados, “Q-switched”, um Quantel – Ultra 50 com comprimento de onda centrado em 1064 nm, energia máxima por pulso 50 mJ, duração de pulso 8 ns e o outro Quantel – Brillian com comprimento de onda centrado em 532 nm, energia máxima por pulso 180 mJ. Para a detecção e seleção de comprimentos de onda o sistema conta com espectrômetro ARYELLE 400-Butterfly, do tipo “echelle” operando em duas faixas espectrais de 190 a 330 nm e de 275 a 750 nm (Figura 1), com resolução espectral de 13-24/29-80 pm, respectivamente. Para o controle temporal entre os dois lasers, entre o segundo pulso do laser e o

sistema de detecção, utiliza-se um gerador de atraso de pulso com 8 canais.

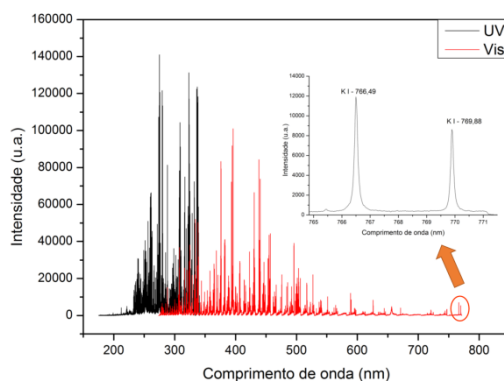


Figura 1. Espectros típico de LIBS DP para solos

Foram adquiridos 30 espectros para cada amostra a partir 5 pulsos acumulados. Trabalhou-se com a potência do laser 1 (532 nm) de 65%, cerca de 80 mJ e a do laser 2 (1064 nm) de 85%, cerca de 43 mJ. Definiu-se ao valor de 1500 ns de *delay* entre pulsos e o *delay* do espectrômetro utilizamos 500 ns.

### 3. Resultados e Discussão

A região espectral estudada compreendeu duplete de potássio em 766,49 e 769,88 nm (Figura, lado direito), por conta da ausência de interferências e aceitável relação sinal/ruído. Contudo, essas linhas são referentes a transições para o estado fundamental, portanto, muito intensas e sujeitas a reabsorção.

Através de um histograma foi possível verificar que os valores de referência estão contidos em um intervalo admissível para a construção da calibração de aproximadamente 150 a 800 mg/kg, com maior densidade de amostras de 300 a 400 mg/kg.

Para a construção dos modelos, a primeira investida foi a mais simples, regressões lineares e univariados utilizando todas as 84 amostras correlacionando informações do pico, tais como intensidade, área e largura à meia altura (FWHM) com os valores de referência. Porém, ficou notável a baixa correlação entre as informações obtidas por LIBS e as concentrações de referência. Como anteriormente citado, essas transições são referentes a transições para o estado fundamental, sujeito a ocorrência de efeito de reabsorção.

Logo, visando o melhor entendimento de como essa faixa espectral de interesse se correlaciona com os valores de concentração de referência, foi analisado o gráfico de correlação, onde os valores de referência foram correlacionados ponto a ponto com toda faixa espectral (Figuraa).

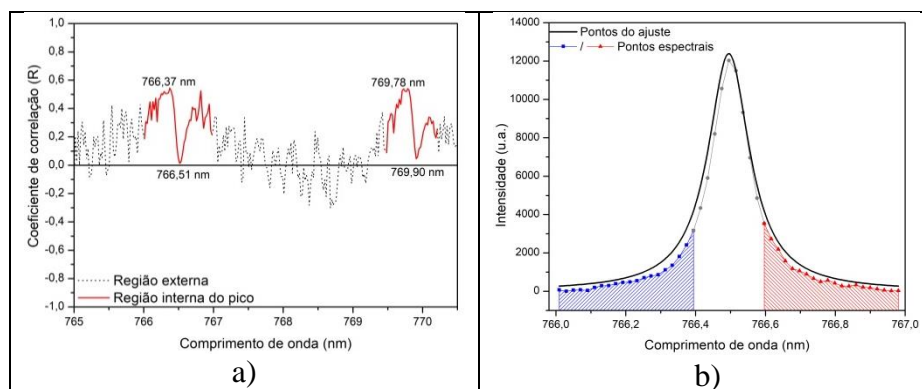


Figura 2. a) Gráfico de correlação (R) da região dos picos de potássio; b) Integrais parciais do pico

O resultado mostrou uma tendência de queda de correlação, chegando a zero, ao passo que se aproxima do topo dos dois picos em questão. A hipótese formulada para essa tendência é de que

pode estar ocorrendo realmente reabsorção a qual 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 (Figurab). 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) (Figurab). Os melhores resultados foram obtidos para a lateral do lado esquerdo do pico (hachurado azul) o qual apresentou os maiores coeficientes de correlação, demonstrando assim uma possível assimetria do pico.

Em seguida, o conjunto amostral foi separado em dois grupos: o primeiro 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. São mostradas a seguir as curvas de calibração utilizando tanto os pontos espectrais (Figuraa), quanto o ajuste Lorentziano (Figurab).

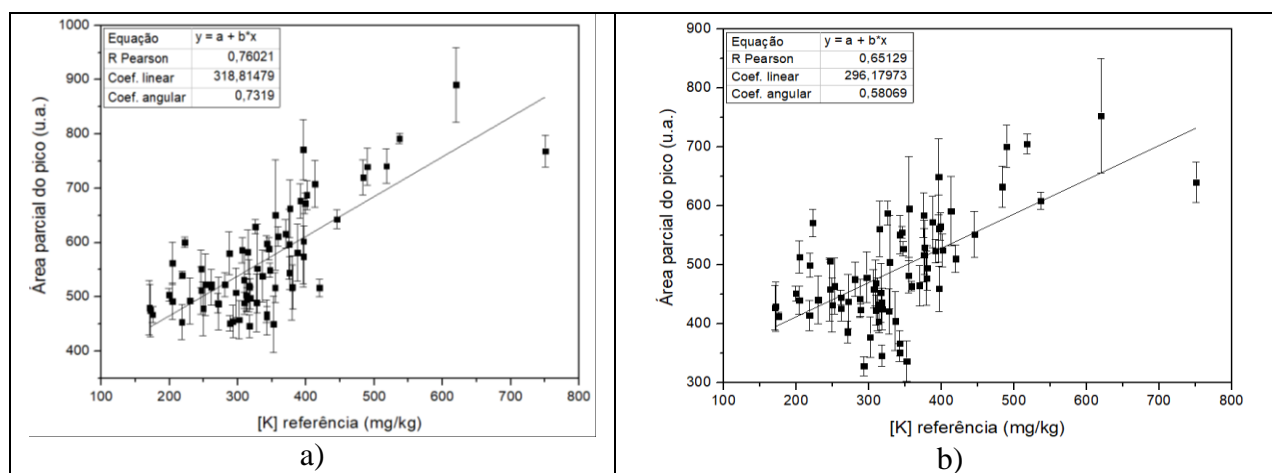


Figura 3. Curvas de calibração para potássio utilizando as integrais parciais da linha 766,49 nm obtidas para; a) pontos os espectrais, b) Fit Lorentziano.

Para garantir a confiabilidade e a qualidade dos modelos, deu-se continuidade ao estudo com a etapa de validação dos métodos analíticos, a qual incluiu a construção da curva de predição e o cálculo dos LOD dos modelos. Os valores preditos pela curva de calibração foram correlacionados aos valores de referência (Figura), bem como o erro médio absoluto relativo (EMAR) de cada modelo foi calculado segundo a Equação 1:

$$EMAR = \left( \%K_{AAS} - \%K_{predito} \right) \cdot 100 / \%K_{AAS} \quad (1)$$

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

Os LOD para os métodos propostos foram calculados de acordo com a literatura (SHRIVASTAVA e GUPTA, 2011) e os resultados foram de 177 mg/kg utilizando os pontos do ajuste Lorentziano e 223 mg/kg para o modelo utilizando os pontos espectrais.

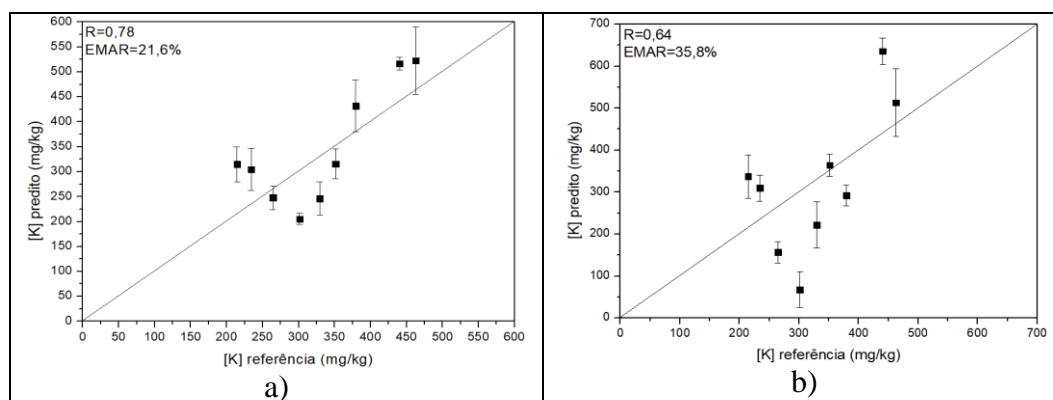


Figura 4. Curvas de validação dos modelos para quantificação de K utilizando LIBS utilizando: a) pontos os espectrais, b) Fit Lorentziano.

#### 4. Conclusões

Os modelos univariados atenderam bem as expectativas com boas 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, bem como fatores intrínsecos à técnica, à matriz analisada, a qual influencia diretamente na formação do plasma e a heterogeneidade natural das amostras. Acredita-se que o modelo utilizando os pontos espectrais se mostrou melhor ajustado e com maior acurácia devido a fatores como possíveis perdas de informações na etapa de ajuste do pico (*peak fit*) para determinação da área. Os LODs se mostraram em média próximos aos obtidos para modelos de calibração utilizando métodos similares.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem o financiamento da pesquisa através dos órgãos de fomento FAPESP e CNPq. O presente trabalho foi realizado com apoio também da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

#### Referências

- BINGS, N. H.; BOGAERTS, A.; BROEKAERT, J. A. C. Atomic spectroscopy: a review. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 12, p. 4653-4681, 2010.
- 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**, v. 53, n. 10, p. 2170-2176, 2014.
- 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. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 85, Part C, p. 260-272, 2016.
- 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**, v. 5, p. 722-729, 2014.
- SHRIVASTAVA, A.; GUPTA, V. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. **Chronicles of Young Scientists**, v. 2, n. 1, p. 21-25, 2011.



## **CAPÍTULO 2**

### **Agricultura Digital e Automação**



**PROCESSO DE BATELADA AUTOMATIZADO PARA DESPELICULAÇÃO DE  
AMÊNDOAS FERMENTADAS DE CUPUAÇU**Victor Bertucci-Neto<sup>1,\*</sup>, José Dalton Cruz Pessoa<sup>1</sup>, Joana Maria Leite de Souza<sup>2</sup><sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP<sup>2</sup> Embrapa Acre, Rodovia BR-364, km 14, 69908-970, Rio Branco, AC

\* Autor correspondente, e-mail: victor.bertucci@embrapa.br

**Resumo:** Na Embrapa Acre mostrou-se que a amêndoa fermentada de cupuaçu submetida a tratamento com soluções básicas e ácidas tinha sua película, testa, ou casca, desprendida. Esta técnica possibilitou o desenvolvimento de um novo método de descascamento da amêndoa de cupuaçu, que é um dos gargalos para se produzir o cupulate, chocolate à base de cupuaçu. Através dessa técnica as amêndoas são preservadas tanto física quanto organolepticamente. Devido ao trabalho manual que essa técnica exige, foi desenvolvido, em parceria com a Embrapa Instrumentação, um sistema automático para atuar em todas as fases do processo.

**Palavras-chave:** Agricultura Familiar, Cupuaçu, Descascamento, Processo, Automação

***AUTOMATED BATCH PROCESS FOR DEHULLING CUPUASSU SEEDS***

**Abstract:** Embrapa Acre demonstrated that when fermented cupuassu almonds were treated with an alkaline solution they were dehulled. This technique allowed the development of a new cupuassu seed dehulling method, that makes it possible to overcome the main bottleneck in cupulate (cupuassu-based chocolate) production. Moreover, seeds keep their physical and organoleptic properties. Due to difficulties to run the manual process, an automated version encompassing all the steps of the original was developed in partnership with Embrapa Instrumentação.

**Keywords:** Cupuassu, Seed, Process, Automation, Dehulling

**1. Introdução**

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) é uma planta nativa da Amazônia Oriental, mas disseminada em toda a Amazônia. Seu fruto, o cupuaçu, tem potencial econômico e social para várias aplicações. A polpa pode ser usada para preparo de diversos produtos alimentícios tais como sucos, doces, cremes, geléias e sorvetes, entre outros. Por sua vez, as amêndoas do cupuaçu submetidas a processos adequados de fermentação e secagem têm sabor e aroma muito característicos e podem ser usadas na fabricação de pó semelhante ao de chocolate, tabletes, além de produtos para indústrias de cosméticos. (Souza, 1996; Ribeiro, 1997; Rocha Neto et al., 1999, Gondim et al., 2001).

O fruto, o maior dentre os do gênero *Theobroma*, tem as características de drupa e de baga, apresentando-se de forma alongada e com as extremidades arredondadas, classificando-se em diferentes formatos. As amêndoas se sobrepõem em cinco fileiras verticais, envolvidas por uma polpa branco-amarelada, delicadamente fibrosa, de sabor acidulado e de cheiro agradável (Venturieri et al., 1993; Müller et al., 1995; Rocha Neto et al., 1999, Gondim et al., 2001). O cupuaçuzeiro é uma planta que passou por um processo de substituição do extrativismo para a forma domesticada, considerando o aumento da demanda nacional e internacional, principalmente para o comércio de polpa, que nos últimos anos vem crescendo gradativamente. Sendo uma espécie de boa adaptação à sombra, o cupuaçuzeiro propicia a formação de consórcios com outras plantas de porte florestal, permitindo resultados econômicos e ecológicos satisfatórios (Müller et al., 1995, Gondim et al., 2001).

Na Região Amazônica, os frutos são comercializados durante a época da colheita,

geralmente in natura. Após o período de safra, a polpa congelada é a principal forma de comercialização. Quanto ao valor social, para o agricultor familiar o cupuaçuzeiro é uma espécie de grande importância, pela utilização da mão-de-obra familiar no beneficiamento primário da polpa dos frutos, agregando valor comercial ao produto. Para produção e aproveitamento em escala comercial, ainda faltam tecnologias de cultivo e processamento que poderão viabilizar uma produção consistente, capaz de assegurar os investimentos agroindustriais de empresas consumidoras do produto (Rocha Neto et al., 1999).

Na Embrapa Acre mostrou-se que a amêndoa fermentada de cupuaçu submetida a tratamento com soluções básicas tinha sua película, testa, ou casca, despreendida. Esta técnica possibilitou o desenvolvimento de um novo método de descascamento da amêndoa de cupuaçu, que é um dos gargalos para se produzir o cupulate, chocolate à base de cupuaçu. Através dessa técnica as amêndoas são preservadas tanto física quanto organolepticamente. Devido ao trabalho manual que essa técnica exige foi desenvolvido, em parceria com a Embrapa Instrumentação, um sistema automático para atuar em todas as fases do processo por batelada.

Dessa forma, o desenvolvimento de novas tecnologias, ou melhoria no desempenho dos processos existentes na cadeia produtiva do cupuaçu pode gerar aumento de renda em escala familiar e empresarial com baixo custo ambiental, além de agregar valor ao produto final. Nesse sentido, o propósito deste trabalho foi focar do desenvolvimento de um sistema automatizado para despeliculação/decorticação da amêndoa de forma a preservar as características físicas e sensoriais.

## 2. Materiais e Métodos

Conforme o diagrama mostrado na Figura 1, o processo para despelicular as amêndoas de cupuaçu é composto de 6 etapas: 1. amêndoas em autoclave (121°C, 3 minutos); 2. imersão em solução básica para despelicular com residência de 7 a 15 minutos; 3. imersão em solução neutralizante com residência de 7 a 18 minutos; 4. enxague e molho com residência de 5 a 15 minutos; 5. retirada de películas por processo manual, ou mecânico; 6. neutralização em ácido (5 minutos) e secagem.

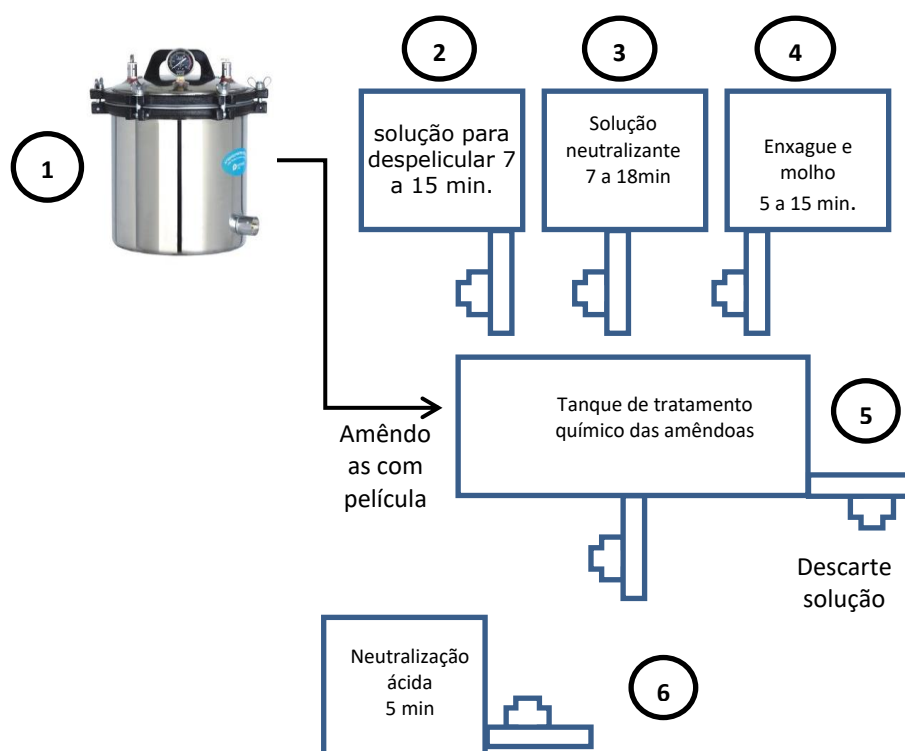


Figura 1. Diagrama do processo para retirar película das amêndoas de cupuaçu.

Quando esse processo é feito de forma manual podem ocorrer erros na temporização, atrasos de tempo na troca de soluções, além da necessidade de acompanhamento de todas as etapas envolvidas. Uma opção mais racional é a de usar um processo automático para cobrir as etapas e que possua flexibilidade quanto ao tempo de residência em cada solução de imersão. Dessa forma, usou-se uma placa de aquisição de dados com barramento digital, conectada a um computador e foi desenvolvida uma programação gráfica em LabView versão 8.2, da National Instruments. Esse sistema permite grande versatilidade e rapidez de programação, sendo limitado fisicamente pela placa de aquisição de dados, seja em números de entradas e saídas analógicas e digitais, ou na velocidade de aquisição. No caso deste processo têm-se quatro etapas de despejo de solução, além de quatro etapas de descarte de solução. A solução encontrada foi usar recipientes acoplados a válvulas com acionamento remoto para abrir e fechar. Foram usados relês de acionamento, um para cada válvula, e as soluções nos recipientes são despejadas por gravidade. Cada relê é conectado a uma porta digital da placa de aquisição através de um *driver* para garantir que a corrente elétrica nas portas digitais não excedam 7 mA. A programação gráfica feita em LabView torna possível implementar as sequências exigidas pelo processo, ou seja, três aberturas e fechamentos de válvulas para as primeiras soluções e consequente despejo no recipiente receptor e mais três aberturas e fechamentos da válvula para descarte. Ao final do processo tem-se mais um despejo de solução e o descarte final. Entre cada etapa é necessário manter as soluções em tempos específicos de residência. Essa programação em LabView exige um sequenciador de eventos, onde cada um se incumbirá de abrir e fechar as válvulas nos tempos impostos. Cada evento se relaciona com uma linha digital de saída especificamente relacionada com um relê que por sua vez comanda uma válvula para abertura e fechamento. Essa programação gráfica é mostrada na Figura 2, onde está diagramado o primeiro evento (são oito eventos, de zero a sete), acionando a linha digital de saída número zero, de forma a comandar um relê e abrir e fechar a válvula conforme o tempo escolhido pelo operador do sistema. Luzes indicativas são acesas no momento em que cada solução é despejada de forma que se possa saber a progressão do processo.

Na penúltima etapa o sistema deve parar e aguardar para que seja feita a retirada das películas. Após retornar com as amêndoas ao recipiente receptor deve-se acionar um comando para que a última solução seja despejada e depois do tempo de residência seja descartada. As espécies usadas neste trabalho estão registradas no SISGEN sob o cadastro n.º A33B09D.

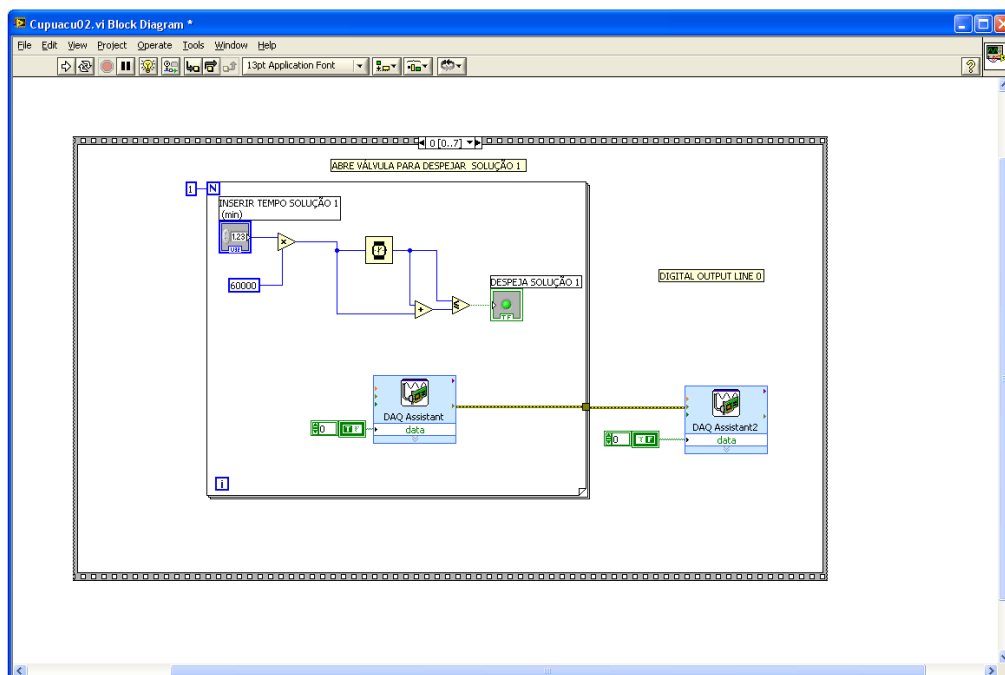


Figura 2. Diagrama em blocos da programação em LabView 8.2, mostrando a primeira etapa do programa resumida em um evento com malha "para" (for).

### 3. Resultados e Discussão

Depois de efetuada a programação, é gerado um arquivo de instrumento virtual que se comunica com o computador e a placa de aquisição de dados via linhas digitais de saída. O sistema apresenta um painel frontal virtual conforme mostrado na Figura 3. Nessa figura vê-se um exemplo da progressão do processo até o descarte da solução 3, em etapas de aleatórias de 2 minutos. O comando "Aciona Solução 4" está aceso, significando que após o término da etapa 6 a solução será imediatamente despejada no recipiente receptor. A versatilidade de programação torna mais fácil a possibilidade de estudar efeitos da variação do tempo de residência e buscar mais eficiência no processo. Há também a possibilidade de aumentar o número de etapas e também de soluções extras se for o caso. Na Figura 4.a vê-se a imagem de uma amêndoa sem a película aguardando para ser reintroduzida no recipiente receptor, enquanto na Figura 4.b vê-se o resultado final de uma batelada de amêndoas prontas para o uso após a secagem.

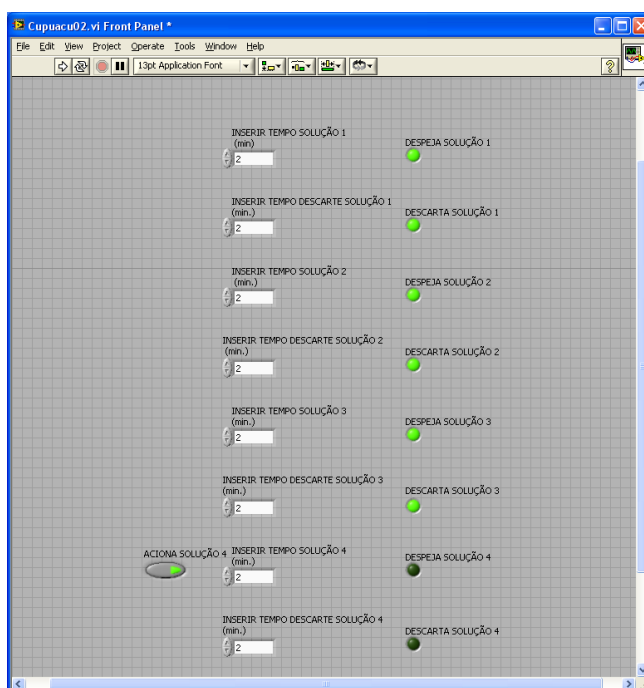


Figura 3. Painel frontal virtual do sistema.



(a)



(b)

Figura 4. (a) processo de retirada da película de forma manual. (b) amêndoas secas e prontas para o consumo.

#### 4. Conclusões

No sistema desenvolvido foi possível automatizar todas as fases do processo em batelada que levam à liberação da película das amêndoas de cupuaçu, provando ser potencialmente de grande valia para pequenos e médios produtores. Também há a possibilidade de testar outras constantes de tempo de residência em cada fase, de forma a refinar o resultado do processo. O sistema poderá ser usado tanto por produtores, como por pesquisadores que indicarão a necessidade de incluir mais soluções nas etapas, tais como, por exemplo, aquecimento/refrigeração e agitação. Essas etapas podem ser incluídas facilmente na programação. Há que se verificar a eficiência do sistema em escalas maiores, mas devido à versatilidade do conjunto programação, computador e placa de comunicação digital com *drivers* e relês, acredita-se que possa ser adaptado em diversas escalas de produção. Sistemas de programação e placas do nível da National Instruments são boas ferramentas de desenvolvimento, devido à versatilidade e rapidez apresentadas, mas podem ter custo excessivo, encarecendo o produto final. Entretanto, toda a diagramação gráfica característica do LabView pode ser traduzida para outros sistemas, como Arduino, por exemplo, com custos menores e de forma dedicada ao equipamento.

#### Agradecimentos

Este trabalho foi desenvolvido com o apoio do projeto Descascar (SEG 03.14.01.015.00.00).

#### Referências

- GONDIM, T.M.S., Thomazini, M.J., CAVALCANTE, M.J.B., SOUZA, J.M.L. Aspectos da Produção de Cupuaçu. Documentos Embrapa, número 67, Embrapa Acre, dezembro de 2001.
- JORGE, L. H. A. Cultivo e Beneficiamento do cupuaçu. Dossiê Técnico – SENAI, julho de 2011
- MÜLLER, C. H. EMBRAPA, EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia oriental – CPATU A cultura do cupuaçu Coleção Plantar, 24 Editor Carlos M. Andreotti. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1995. 61p.
- NOBEL, P. S. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. 4th ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005. 600 p.
- RIBEIRO, C.C. Perspectivas de utilização tecnológica da polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum). In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA-DOREINO E CUPUAÇU, 1; 1996, Belém. Anais. Embrapa Amazônia Oriental/IICA, 1996. p.193-197.
- ROCHA NETO, O. G., OLIVEIRA JÚNIOR, R. C., CARVALHO, J. E. U., LAMEIRA, O. A. SOUZA A. R. de; MARADIAGA, J. B. G. Cupuaçu. In: Principais produtos extrativos da Amazônia e seus coeficientes técnicos. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Centro Nacional de Desenvolvimento Sustentado das Populações Tradicionais, 1999. p. 24-40.
- SOUZA, A. das G. C. de. Recursos genéticos e melhoramento do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng.) Schum.). In: WORKSHOP SOBRE AS CULTURAS DE CUPUAÇU E PUPUNHA NA AMAZÔNIA, 1., 1996, Manaus. Anais... Manaus: Embrapa-CPAA, 1996. p. 110-126. (Embrapa-CPAA. Documentos, 6).
- VENTURIERI, G.A. CUPUAÇU: A espécie, sua cultura, usos, e processamento. Belém: Clube do Cupu, 1993. 108p.
- VENTURIERI, G.A. Base de dados do cupuaçu. Disponível na Internet: <http://www.ufpa.br/centros/ccb/citogenetica/cupu/>, junho.1999.

**PROJETO, CONSTRUÇÃO E TESTES DE GERMINADORA AUTOMATIZADA DE  
BAIXO CUSTO**P. Eboli<sup>1,\*</sup>, I. Lache<sup>1</sup><sup>1</sup> Universidade Federal Fluminense, Av. Passo da Pátria, 156, 24.210-240, Niterói, Rio de Janeiro

\* Autor correspondente, e-mail: ebolipedro@id.uff.br

**Resumo:** Este trabalho apresenta a concepção, projeto e construção de um Germinador de Câmara Automatizado, que tem como função propiciar a ambiência adequada para que Testes de Germinação e Testes de Vigor em sementes sejam realizados, possibilitando o controle do termoperíodo e do fotoperíodo através de Arduino. O protótipo tem capacidade de refrigeração até uma temperatura interna mínima de 11,4°C. Para comprovar o correto funcionamento do germinador foi conduzido um Teste de Germinação em sementes de *Eucalyptus grandis*, sob a temperatura de 25°C com substrato areia e umidade relativa do ar maior que 90%. Nas quatro repetições realizadas os testes atingiram índices de germinação maiores que 80%. Desta maneira, o índice de germinação encontrado foi compatível com o poder germinativo indicado pelo fornecedor das sementes.

**Palavras-chave:** teste de germinação, arduino, germinadora de baixo custo, teste de vigor.

**PROJECT, CONSTRUCTION AND TESTS OF LOW COST AUTOMATED GERMINATOR**

**Abstract:** This work presents the conception, project and construction of an Automated Germinator Chamber, whose function is to provide the proper ambience for seed germination tests and seed vigor tests, enabling thermoperiod and photoperiod control through Arduino. The prototype is capable of cooling to a minimum internal temperature of 11,4 °C. In order to prove the correct functioning of the germinator, a germination test on *Eucalyptus grandis* seeds was executed at 25 °C temperature, using sand as substrate and relativity humidity greater than 90%. In the four repetitions performed, the tests reached germination rates higher than 80%. Thus, the germination index found was compatible with the germination power informed by the seed supplier.

**Keywords:** germination test, arduino, low cost germinator, vigor test.

**1. Introdução**

Segundo as Regras para Análise de Sementes – RAS (Brasil, 2009), os germinadores de câmara consistem de um recipiente de paredes duplas, isoladas por uma camada de ar ou de material isolante e equipada com bandejas ou suportes onde as sementes são postas para germinar. No fundo do germinador deve estar previsto um receptáculo para a alocação de água. Os germinadores deste tipo podem prever sistema de controle do termoperíodo e fotoperíodo. Para testes realizados na ausência de luz ou com luz solar indireta ou artificial, a variação de temperatura interna à câmara não deve ultrapassar  $\pm 2^\circ\text{C}$ , em cada período de 24 horas. A iluminação durante o teste é aconselhada com o intuito de favorecer o desenvolvimento de estruturas essenciais das plântulas e então facilitar a avaliação e reduzir a possibilidade de ataque de microorganismos. Quando o teste de germinação é realizado em sementes para as quais a luz é indicada, as mesmas devem ser iluminadas durante no mínimo 8 horas para cada ciclo de 24 horas. Segundo López et al. (2019), testes de germinação podem revelar lotes de sementes com baixos índices de germinação, o que pode acontecer em função de características genéticas, assim como em função de tempo de armazenamento em demasia. Desta maneira, com posse dos resultados dos testes, decisões sobre a aquisição de lotes de sementes podem ser tomadas e assim influenciando no processo de produção como um todo. Entretanto, o equipamento utilizado para realizar o teste de germinação é



dispendioso e muitos produtores agrícolas que desejam obter maior eficiência em seu processo produtivo não tem condições financeiras para adquiri-lo. Portanto, existe uma demanda para germinadores automatizados, com a capacidade de realizar o controle do termoperíodo e do fotoperíodo, porém com baixos custos de aquisição. Segundo Armaki et al. (2014), a correlação entre as características fenotípicas das plântulas, tais como porcentagem de germinação, comprimento das raízes, caules e sementes, índice de vigor e peso da plântula, quando os testes ocorreram em germinador e casa de vegetação foi alta, para sementes do gênero *Poa* de três espécies diferentes. Portanto, os resultados obtidos em germinador são fortemente semelhantes aos obtidos em casa de vegetação, e provavelmente em experimentos no campo.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Câmara de Germinação

Se trata de uma caixa de 0,017 m<sup>3</sup> (17L), composta de poliestireno expandido. Suas dimensões são 0,30m de altura, 0,025m de espessura, 0,29m de comprimento e 0,20m de largura. Como material isolante, envolvendo todo o recipiente, foi utilizado o papel de alumínio, com o intuito bloquear a entrada de ondas de luz visível no recipiente, além de auxiliar na manutenção da temperatura interna. A segunda parede foi elaborada em espuma vinílica acetinada, na cor preta e com espessura de 0,01 m. Assim se deu a construção do germinador de câmara de parede dupla. A figura 1 apresenta a germinadora construída.



Figura 1. Câmara de Germinação

### 2.2. Sistema de Controle

O sistema de controle tem como base o microcontrolador Arduino Uno, que recebe informações provenientes do sensor de temperatura e umidade do ar AM2302 DHT22 e do relógio Real Time Clock RTC DS 1307, e então envia sinais de comando para que o módulo Relay 5V 4 Canais possa acionar e ou desligar os sistemas de iluminação e refrigeração, se necessário. Além disso, o sistema é munido de um módulo Cartão Micro SD, que possibilita o armazenamento dos dados coletados. O código que controla todas essas ações foi escrito numa linguagem de programação muito próxima da C++, escrito no software livre Arduino IDE.

### 2.3 Luz

Foi colocada sobre a tampa do recipiente, à uma distância aproximada de 0,15 m do recipiente onde as sementes foram dispostas uma luz de LED fria e branca compacta, fabricada pela empresa OL Iluminação, de potência 15 W, fluxo luminoso de 1510 lm, ângulo de abertura de 210°, índice de reprodução de cor maior que 80 e temperatura de cor de 6500 K.

### 2.4. Placa de Peltier

Se trata de um dispositivo termoeletrico composto de dois semicondutores. Uma diferença de temperatura é gerada na junção dos condutores, cobre e bismuto, situados no interior da placa, durante a passagem de corrente. Desta maneira, à medida em que uma corrente elétrica passa pela

placa, uma das faces se aquece, enquanto a outra face se resfria. Desta forma, a face fria foi colocada na tampa do recipiente, na parte interna, com o intuito de refrigerar o ambiente ao passo que a face quente foi posta na parte externa do recipiente, sobre a tampa. Com o intuito de alcançar a temperatura almejada para o experimento, de 25°C, foram utilizadas duas Placas de Peltier do fabricante Hebei I.T. Ltd. Modelo TEC1-12706, funcionando sob 12V, acompanhadas dos seus respectivos coolers.



Figura 2. Placa de Peltier

### 2.5. Sementes

O recipiente do lote de sementes da espécie *Eucalyptus grandis* adquirido é proveniente de um pomar de sementes localizado em uma área de produção de sementes com matrizes selecionadas. Se trata de um recipiente de 100g, contendo aproximadamente 10.000 sementes, com poder germinativo de 80%.

### 2.6. Análise de Desempenho do Germinador

#### 2.6.1. Ensaio de Temperatura Mínima

Este teste foi empregado com o intuito de estudar o desempenho e as limitações do sistema de refrigeração do germinador, no que diz respeito à sua capacidade máxima de resfriamento. Além disso, o tempo para que o germinador atinja esta temperatura mínima de operação foi mensurado. Desta forma, o sistema de refrigeração foi acionado, resfriando o interior da germinadora até que a temperatura interna se estabilizasse, e assim demonstrando a temperatura mínima alcançável pelo protótipo. Vale ressaltar que durante o ensaio, a umidade relativa do ar interno foi mantida em valores maiores que 90,0 % e a temperatura externa ao recipiente foi observada. Em adição, um teste semelhante foi realizado, entretanto com o sistema de iluminação acionado, com o intuito de analisar o comportamento do sistema de refrigeração do protótipo com a iluminação em operação.

#### 2.6.2. Ensaio de Vedação

Este teste foi realizado visando observar como se dá a evolução da temperatura interna ao protótipo, uma vez que o sistema de refrigeração não esteja acionado. O tempo em que ocorre esta evolução, assim como a temperatura externa à germinadora foram constatados. Vale ressaltar que, durante o ensaio, a umidade relativa do ar interno foi mantida em valores maiores que 90,0 %. Desta maneira, o sistema de refrigeração foi acionado até que a temperatura interna atingisse 15,0 °C, considerando a temperatura externa de 22,0 °C. Então, o sistema de refrigeração foi desligado e a variação dos valores de temperatura interna foram verificados. No mais, um teste similar foi conduzido, todavia com o sistema de iluminação em operação.

## 3. Resultados e Discussão

Levando em consideração que a temperatura externa seja de 22,2 °C e a umidade relativa do ar interno seja maior que 90,0 %, o protótipo tem capacidade de atingir uma temperatura interna mínima de 11,4 °C sem a iluminação em operação. Com o sistema de iluminação acionado, o protótipo alcança uma temperatura interna mínima de 16,9 °C. Na figura 3 se observa a resposta da temperatura interna durante o teste de temperatura mínima.

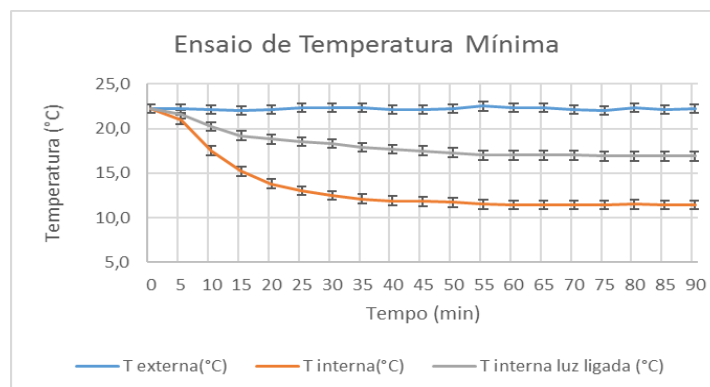


Figura 3. Ensaio de Temperatura Mínima

Uma vez que a temperatura interior ao protótipo seja de 15,0 °C e levando em consideração a temperatura externa de 22,0 °C e a umidade relativa do ar interna maior que 90,0%, a temperatura interna à germinadora permanece por 9 minutos sem sofrer variação maior que 2,0 °C, sem o sistema de iluminação acionado. Quando o sistema de iluminação está em operação, por sua vez, a temperatura interna à germinadora permanece por 6 minutos sem sofrer variação maior que 2,0 °C.

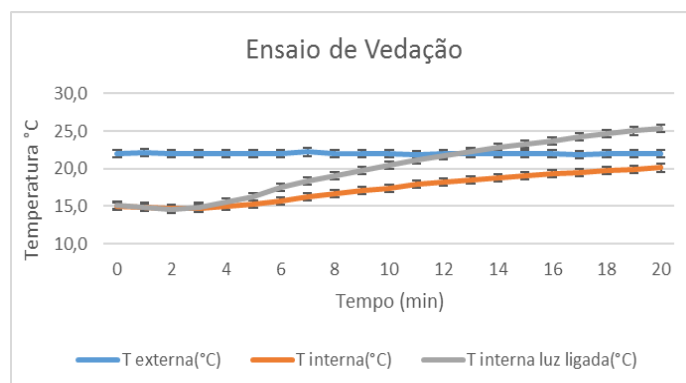


Figura 4. Ensaio de Vedação

#### 4. Conclusões

O protótipo alcançou sucesso ao atender às demandas estabelecidas pelas Regras para Análise de Sementes – RAS (Brasil, 2009), no que diz respeito às especificações para germinadores de câmara e controle da temperatura, umidade e iluminação. Portanto, testes de germinação e testes de vigor em sementes podem ser executados neste equipamento, constituindo uma alternativa acessível para que pesquisadores e estudantes interessados realizem seus experimentos visto que o valor final para a construção da germinadora foi de aproximadamente R\$550,00.

#### Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a M. I. Miranda Neto pela ajuda no preparo do substrato e R. J. A. Rigueira e F. A. Rodrigues pelo apoio durante a pesquisa como um todo.

#### Referências

- Armaki, M. A. The Effects of Metabolism in Response to Water Stress of Three Poa Species under Germinator and Greenhouse Conditions. *International Journal of Agriculture, Forestry and Fisheries*, p. 22-28, Vol. 2, No. 2, 2014.
- Brasil. Regras para Análise de Sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília: MAPA/ACS, 395p, 2009.
- López, A. H.; Alejandre, A. X. A.; Francisco, N. M.; López, H. H. Design, construction, verification and testing of a low cost germinator, *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol. 10, No.2, 2019,

**INSTRUMENTAÇÃO E AUTOMAÇÃO DE REATORES PARA DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS DE FERMENTAÇÃO SÓLIDA PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS**Rafael Frederico Fonseca<sup>1</sup>, Cristiane Sanches Farinas<sup>2</sup>, Victor Bertucci-Neto<sup>2,\*</sup><sup>1</sup>*Escola de Engenharia de São Carlos, Av. Trab. São Carlense, 400, São Carlos, SP, 13566-590*<sup>2</sup>*Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, São Carlos, SP, 13560-70*\* *Autor correspondente, e-mail: victor.bertucci@embrapa.br*

**Resumo:** Em um esforço conjunto de várias áreas do conhecimento foram desenvolvidas técnicas para avaliar o desempenho da produção de enzimas em fermentação sólida. Isto resultou em vários trabalhos acadêmicos e novas tecnologias incluindo no desenvolvimento de um reator de colunas e outro do tipo tambor agitado em escala pré-piloto. Esses equipamentos automatizados são potenciais geradores de novos processos de fermentação sólida, ajudando a indicar caminhos para se decidir sobre a viabilidade de escalonamento superior de diferentes processos.

**Palavras-chave:** fermentação, sólida, reator, enzima, automação.

***INSTRUMENTATION AND AUTOMATION OF REACTORS FOR THE DEVELOPMENT OF SOLID STATE FERMENTATION PROCESSES AND ENZYME PRODUCTION***

**Abstract:** In a joint effort involving multiple areas of research techniques were developed to evaluate the performance of enzyme production on solid state fermentation. This resulted in many academic works and new technologies, including the development of a column reactor and a stirred drum reactor in pre-pilot scale. These automated equipments can potentially introduce new solid state fermentation processes indicating new ways to decide on the viability of scaling up of different process.

**Keywords:** fermentation, solid, reactor, enzyme, automation

**1. Introdução**

Há pouco mais de 10 anos iniciaram-se vários esforços na Embrapa Instrumentação incentivados por diferentes projetos de pesquisa para o desenvolvimento de processos de produção de celulasas a partir de Fermentação em Estado Sólido (FES). A produção dessas enzimas de forma eficiente é um dos gargalos para assegurar a viabilidade econômica de rotas de hidrólise enzimática para a produção de etanol celulósico (KNAUF e MONIRUZZAMAN, 2004; HAHN-HAGERDAL et al., 2006, FARINAS et al., 2011). Um processo de FES é basicamente o crescimento de microrganismos em substrato sólido com umidade suficiente para manter o crescimento e metabolismo, ou seja, sem água livre (RAHARDJO et al., 2006), apresentando algumas vantagens em relação à Fermentação Submersa, produzindo mais enzimas por unidade de volume fermentado, maior estabilidade térmica e menor susceptibilidade em relação a inibição por substrato (HOLKER et al., 2004), além de permitir o uso de resíduos agroindustriais como substrato e menor uso de água. Em geral, faz-se, inicialmente, uma varredura nas condições de fermentação em escala de bancada para cada espécie de microrganismo, onde são usados placas de Petri e erlenmeyers, dentre outros, para se obter uma caracterização inicial do processo. Tendo as espécies selecionadas é preciso aumentar a escala do processo. Dentre os diversos tipos de reatores de FES o modelo baseado em colunas aeradas (DURAND, 2003) é vantajoso por permitir a simulação de inúmeras condições do processo quando se varia a temperatura do meio, fluxo de ar e tipo de substrato. Cada coluna pode simular uma condição específica do processo a ser escalonado. Dessa forma, foi desenvolvido inicialmente na Embrapa Instrumentação um reator automatizado de FES que possui até 20 colunas que podem ser monitoradas simultaneamente ao longo do processo. Com o uso

intensivo desse equipamento foi possível aprofundar os conhecimentos relativos a alguns processos de FES de forma a avaliar a possibilidade de um escalonamento superior em determinadas condições físicas de operação. A etapa seguinte foi a de desenvolvimento de um reator em escala pré-piloto. Dentre os modelos mais estudados, escolheu-se o de tambor com agitação por pás de forma a tornar o meio mais homogêneo possível. Através dessa sequência de etapas pode-se então avaliar de forma mais clara a viabilidade de vários processos de FES desde que sejam compatíveis em condições físicas com os reatores desenvolvidos.

## 2. Materiais e Métodos

No reator de colunas manteve-se como princípio de funcionamento uma razão entre fluxo de ar seco com outro de ar saturado com água de forma a obter um fluxo de ar constante com umidade também constante, conforme a necessidade do operador. O sistema é composto de uma entrada de ar saturado de água e outra de ar seco. Cada uma dessas linhas de entrada possui um controlador de fluxo de massa de 0 a 1 litro/minuto comandados por sinais elétricos entre 0 e 5 volts DC com saída elétrica proporcional à medida de fluxo. As tubulações de ar seco e úmido são ligadas entre si para fazer a mistura ajustada pelos comandos. Um conjunto sensor mede a umidade relativa e a temperatura do ar resultantes dessa mistura. Um segundo conjunto sensor mede a concentração de CO<sub>2</sub> na saída de cada coluna aerada. O sistema pode comportar até 20 colunas aeradas com o mesmo valor de fluxo, umidade, e temperatura do ar. Todos os componentes relacionados ao fluxo de ar (colunas de fermentação e tubulação) são imersos em banho com temperatura controlada. Um sistema mecânico divide a taxa de fluxo igualmente para todas as colunas. As medidas são armazenadas através de uma placa de aquisição de dados com canais de entradas e saídas analógicas e digitais para monitoramento e acionamento. A sequência de medidas, armazenamento de dados, desenhos de gráficos em tempo real, e acionamento dos controladores de fluxo de massa, é feita com auxílio de um pacote de programação por interface gráfica, LabView, da National Instruments. Este pacote permite o desenvolvimento de instrumentos virtuais que fazem interface com placas de aquisição de dados, a exemplo do que foi usado no sistema. As medidas e acionamentos são feitas em intervalos de tempo escolhidos pelo operador (BERTUCCI-NETO et al. 2011; FONSECA, 2012, FARINAS et al. 2011). Na Figura 1 vê-se a representação da montagem do reator de colunas.



Figura 1. Representação esquemática do Reator de FES em colunas aeradas.

Quanto à construção do reator de tambor agitado foram considerados os controles de fluxo de ar, da agitação e da temperatura do meio. Devido à ausência de água livre no meio torna-se difícil remover o calor produzido frente aos baixos coeficientes de trocas térmicas do meio, prejudicando a capacidade de controle e repetição do processo. Cada tipo de reator possui uma característica para remoção apropriada de calor e segundo a literatura os do tipo bandeja, ou tipo tambor rotativo/agitado são mais adequados para produção de enzimas. Portanto, o controle de temperatura do meio é crucial para o sucesso da operação. As etapas a serem consideradas são: controle da agitação (acionando motor de passo com velocidades entre 0,5 e 3,2 rpm), do fluxo de ar (acionando dois controladores de 0 a 5 litros/minuto, um para ar seco e outro para úmido) e da temperatura das paredes externas com monitoramento da temperatura meio através de uma sonda (o sistema de aquecimento do reator foi constituído resistência elétrica de 250W, duas placas de

alumínio e oito dissipadores para de alumínio), além da programação em computador para gerenciar todo o sistema. A Figura 2 ilustra a montagem em vista superior frontal. O ar frio, soprado por um ventilador colocado no alto da peça, é forçado através dos dissipadores e aquecido nesse processo. O ar é então direcionado perpendicularmente pela parte de baixo do biorreator e circulado ao redor deste. O acionamento da resistência elétrica é feito através de um relé. O ciclo de acionamento da potência é de 30 segundos e o tempo de acionamento, calculado por um controlador (FONSECA, 2016). O volume útil do reator é da ordem de 10 litros.

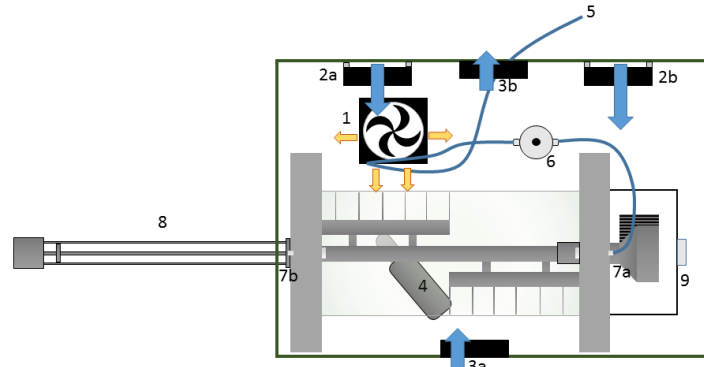


Figura 2. Vista superior do reator. 1- Aquecedor da cuba e da linha de alimentação de ar; 2 a, b- ventiladores para circulação interna de ar; 3 a, b- entrada e saída de ar forçada para refrigeração da cuba; 4- sensor da temperatura interna da cuba; 5- linha de alimentação de ar; 6- sensor de temperatura e umidade relativa do ar que alimenta o reator; 7a entrada de ar do biorreator e 7b-saída de ar; 8- sonda de temperatura do meio; 9- suporte metálico para conectores eletrônicos e proteção do conjunto motor/redução. As setas indicam o sentido do fluxo de ar, as setas laranjas representam o ar aquecido.

Os microrganismos usados neste trabalho estão no Cadastro de Acesso N° A9C5CF5.

### 3. Resultados e Discussão

Para o funcionamento adequado de cada sistema é fundamental o desenvolvimento de programas de gerenciamento de equipamentos. Na Figura 3 vê-se o painel frontal do reator de tambor agitado e na Figura 4 detalhe da programação visual feita em LabView.

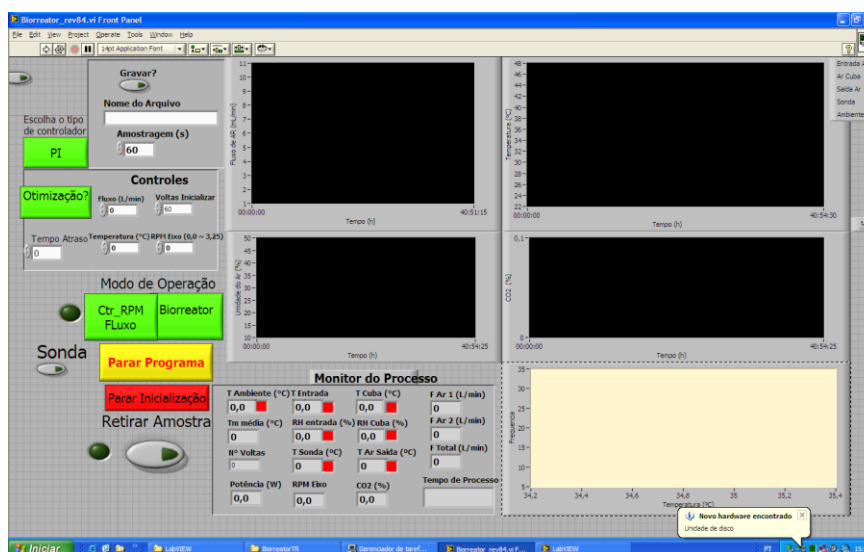


Figura 3. Painel frontal do instrumento virtual feito em LabView para reator tambor agitado.

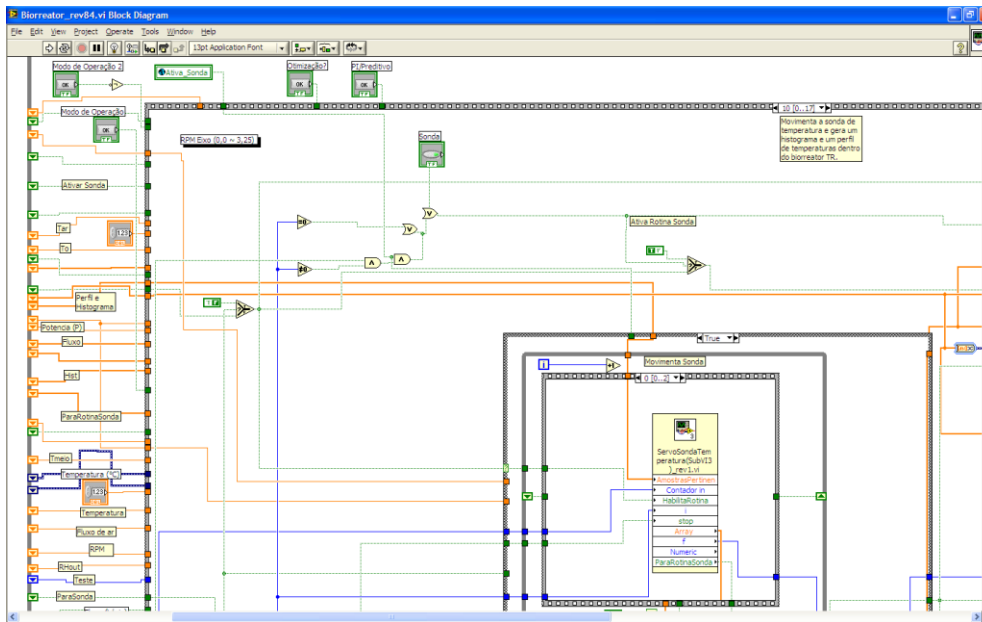


Figura 4. Trecho da programação visual de instrumento virtual feito em LabView para reator tambor agitado.

Na Figura 5.1 vê-se o comportamento da respiração dos microrganismos (fungo *Aspergillus niger* 3T5B8), pela medida da concentração de CO<sub>2</sub> em cada coluna do reator de FES para as mesmas condições ambientais. Na Figura 5.2 vê-se a evolução da produção de endoglucanase e do crescimento microbiano, em medidas reais e simuladas. Em 6.2.(a) e (d) T<sub>m</sub>=37°C, em (b) e (f) T<sub>m</sub>=30°C e em (c) e (g) T<sub>m</sub>=27°C, sendo T<sub>m</sub> a temperatura do meio. Em (a), (b) e (c) os losangos pretos mostram os dados experimentais. Em (d), (e) e (f) as linhas pretas mostram os dados experimentais de CO<sub>2</sub>. O perfil de cores mostrado indica a frequência com que um determinado evento ocorreu durante os experimentos (FONSECA, 2018).

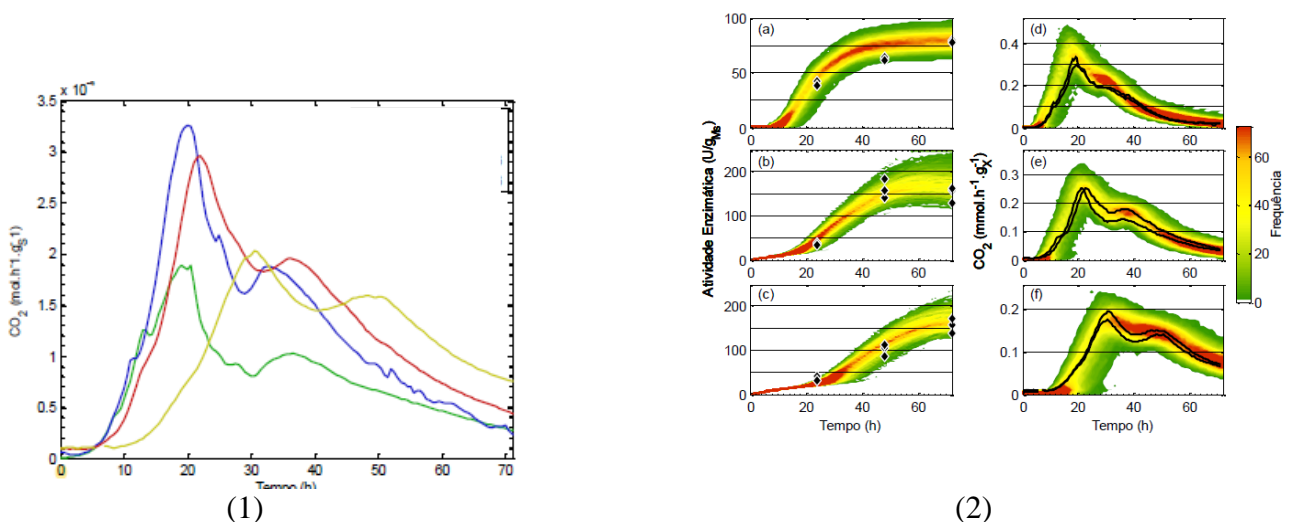


Figura 5.1. Comportamento da respiração dos microrganismos. 5.2 Evolução da produção de endoglucanase e do crescimento microbiano, em medidas reais e simuladas.

#### 4. Conclusões

O desenvolvimento dos reatores em escalas distintas (coluna e tambor agitado) possibilitou a realização de diversos trabalhos de pesquisa mostrando um grande potencial para estudos de

viabilidade econômica e tecnológica de novos processos de produção de enzimas, os quais não se limitam apenas a ramos de energia, mas também aos de alimentos, cosméticos, e tratamento e aproveitamento de resíduos, entre outros.

### Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo projeto de pesquisa Embrapa 13.14.09.004.00.00

### Referências

- BERTUCCI NETO, V., FONSECA, R. F., PIROTA, R. D. P. B., FARINAS, C. S.. Sistema Automatizado para Processos de Fermentação em Estado Sólido: Produção de Enzimas pelo Fungo *Trichoderma harzianum*. In: XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos, 2011, Caxias do Sul. Anais do XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos, 2011.
- DURAND, A. Bioreactor designs for solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, v. 13, n. 2-3, p. 113-125, Mar 2003.
- FARINAS, C., VITCOSQUE, G. L., FONSECA, R. F., BERTUCCI-NETO, V., COURI, S. Modeling the effects of solid state fermentation operating conditions on endoglucanase production using an instrumented bioreactor. *Industrial Crops and Products*, v. 34, n. 1, p. 1186-1192, JUL 2011 2011.
- FONSECA, R. F. Sistema de Controle de fluxo, temperatura e umidade relativa do ar para processos de fermentação em estado sólido. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2012.
- FONSECA, R. F. Dinâmica, Otimização e Controle de Processos de Fermentação em Estado Sólido: Desenvolvimento de Metodologias em Escala Laboratorial. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2016.
- FONSECA, R. F., MELO, C. C. B., SANCHES, B. C. P., BERTUCCI-NETO, V., FARINAS<sup>1</sup>, C. S., KWONG, W. H. Modelling of Solid-State Fermentation over Wide Operational Range for Application in Process Optimization. *THE CANADIAN JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING*, VOLUME 96, AUGUST 2018.
- HAHN-HAGERDAL, B., GALBE, M., GORWA-GRAUSLUND, M.F., LIDÉN, G., ZACCHI, G., 2006. Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends Biotechnol.* 24, 549-556.
- HOLKER, U.; HOFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 64, n. 2, p. 175-186, Apr 2004.
- KNAUF, M., MONIRUZZAMAN M., 2004. Lignocellulosic biomass processing: A perspective. *Int. Sugar J.* 1263, 147-150.
- RAHARDJO, Y.S.P., TRAMPER, J., RINZEMA, A., 2006. Modeling conversion and transport phenomena in solid-state fermentation: A review and perspectives. *Biotechnol. Adv.* 24, 161–179.



**CONFIGURAÇÃO DE REDE INFORMATIZADA PARA MONITORAMENTO DO BEM-ESTAR E COMPORTAMENTO DE BOVINOS DE CORTE A PASTO**

A.R. Garcia<sup>1,\*</sup>, A.C.C. Bernardi<sup>1</sup>, J.R.M. Pezzopane<sup>1</sup>, E.S. Guimarães<sup>1</sup>, A.F. Pedroso<sup>1</sup>,  
N. Romanello<sup>2</sup>, A.N. Barreto<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luiz, km 234, CEP 13560-970, São Carlos-SP

<sup>2</sup> FMVZ/USP, Av. Duque de Caxias Norte, 225, CEP 13635-900, Pirassununga-SP

<sup>3</sup> UFPA, Av. dos Universitários, s/n, CEP 68746-630, Castanhal-PA

\* Autor correspondente, e-mail: alexandre.garcia@embrapa.br

**Resumo:** O objetivo deste trabalho foi apresentar o processo de desenvolvimento e instalação em áreas de sistemas integrados de pecuária de corte uma rede de comunicação de dados com fornecimento autônomo de energia elétrica para monitoramento remoto do bem-estar e comportamento de bovinos de corte. A implantação da rede de conectividade foi realizada na Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos-SP, Brasil. Foram descritas as etapas de planejamento da estratégia de conectividade, de implantação dos receptores a campo, de energização, de adoção experimental e aprimoramento, que ocorreram nos anos de 2016 a 2019. A conexão alcançou a cobertura de área total de 30 ha, que compreendeu áreas de pastagens sem arborização ou com integração lavoura-pecuária-floresta. Realizou-se o monitoramento remoto dos animais em dois momentos, de maio a junho e de setembro a dezembro de 2017. Após dois anos de uso em pesquisas, foi executada sua atualização, a fim de aumentar a flexibilidade de uso. Foi observado incremento significativo na rede de conectividade, permitindo ao usuário acessar a base de dados via internet, via dispositivos móveis, em uma nova interface com mais funcionalidades, que permitem maior controle e facilidade na gestão da informação.

**Palavras-chave:** comportamento animal, conectividade rural, fazendas inteligentes, pecuária de precisão, rede *mesh*

**COMPUTERIZED NETWORK SETUP FOR WELFARE AND BEHAVIOR MONITORING OF BEEF CATTLE RAISED ON PASTURE FIELDS**

**Abstract:** The aim of the work was to present the development and the set up of a connectivity network in pasture areas, based on an autonomous supply of electricity, which is used for remote monitoring of beef cattle behavior. The implementation of the connectivity network was carried out at Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos-SP, Brazil. The stages of connectivity planning, implementation of the receivers on field, energy supply, experimental adoption and improvement were described, which occurred from 2016 to 2019. The mesh network covered a total area of 30 ha, that comprised pastures without afforestation or with integrated Crop-Livestock-Forest system. The remote monitoring of animals occurred in two stages, from May to June and from September to December 2017. After two years of adoption on experiments, a renewal was conducted to provide a larger flexibility of use. Consequently, it was observed a significant improvement of the connectivity capability that allowed easier and more flexible access to the database via Internet. The renewed net can be accessed by mobile devices and presents new interface and functionalities, which allow higher control and a friendly management of information.

**Keywords:** animal behavior, mesh network, precision livestock, rural connectivity, smart farms

**1. Introdução**

A busca pela eficiência e a adequação dos sistemas de produção animal às atuais exigências mercadológicas passa obrigatoriamente pela melhoria da gestão de toda cadeia produtiva. Nesse contexto, a Pecuária de Precisão (ou PLF, do termo em inglês *Precision Livestock Farm*) vem crescendo e ganhando destaque na pecuária mundial. A pecuária de precisão prima pela melhoria

dos processos produtivos dos rebanhos e diminuição dos impactos ambientais, a fim de promover, dentre outros fatores, maior satisfação dos consumidores e maior retorno econômico para os produtores rurais (BERNARDI et al., 2014). A pecuária de precisão tende a unificar áreas do conhecimento, como as ciências agrárias, ciências da computação e das engenharias mecânica e elétrica, e tem como objetivo criar mecanismos de aquisição e gestão de informações baseado no monitoramento automático contínuo e no controle em tempo real da produção, reprodução, saúde e bem estar dos animais (BERCKMANS, 2014).

O monitoramento por sensores tem sido utilizado para mensurar indicadores de saúde dos animais individualmente (HOGEVEEN et al., 2010). A razão para se investir em sistemas de monitoramento por sensores varia em função do perfil socioeconômico e geográfico do produtor. Entre as motivações dos produtores de bovinos para investir em tecnologias de precisão destacam-se a expectativa de redução do trabalho a campo e a maior facilidade no manejo diário do rebanho (STEENEVELD e HOGEVEEN, 2015). Paralelamente, as atuais exigências de mercado por bem-estar animal e a qualidade do produto final vêm ocasionando constante evolução e modernização da pecuária de corte, principalmente em relação ao manejo dos animais. Dessa forma, o uso do monitoramento por sensores tende a apresentar resultado econômico positivo, podendo o produtor interagir com as ferramentas de pecuária de precisão para alimentar suas próprias análises, garantindo a segurança do animal e a qualidade e do produto (STEENEVELD et al., 2015). Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi apresentar o processo de desenvolvimento e instalação em áreas de pastagens de uma rede de conectividade com fornecimento autônomo de energia elétrica para o monitoramento remoto do comportamento de bovinos de corte, ilustrando sua adoção primária e evolução tecnológica para uso em dispositivos móveis.

## 2. Material e Métodos

O trabalho foi conduzido na Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos-SP, Brasil (21°57'32"S, 47°50'32"W, 860m), sendo relatado com base em pesquisa documental, em ações de desenvolvimento tecnológico em curso e em publicações científicas já realizadas que adotaram o sistema de informação instalado. As ações ocorreram de novembro de 2016 a agosto de 2019.

### 2.1. Descrição da Área Experimental

A área de implantação da rede de conectividade compreendeu área de pesquisa genericamente denominada de “Área de ILPF”, que totaliza 30 ha de pastagens e inclui: i) pastagem intensiva (INT) de capim Piatã (*Urochloa brizantha*); ii) Integração lavoura-pecuária (ILP), em que um terço da área é renovada anualmente com plantio de milho consorciado a capim Piatã; iii) integração floresta-pecuária-floresta (ILPF) plantado com *Eucalyptus urograndis* (GG100); iv) integração de pastagem-floresta (IPF), com capim Piatã e eucalipto; v) pastagem extensiva (EXT) de capim braquiária (*Urochloa decumbens*). As árvores eram dispostas em linhas simples, no sentido leste-oeste, com espaçamento de 15 metros entre linhas e 2 metros entre plantas (366 árvores/ha). As pastagens são manejadas em modo rotacionado intensivo com 6 dias de pastejo e 35 dias de repouso em épocas de chuvas e secas. Os piquetes são divididos com cercas elétricas em 6 subdivisões de 0,5 ha cada, com 2 repetições. Os piquetes dos sistemas de produção convergem para centros de manejo, dotados de bebedouros automáticos e cochos para suplementação mineral.

### 2.2. Planejamento da Estratégia de Conectividade

A rede de comunicação foi idealizada em 2016, envolvendo as etapas de identificação das propriedades físicas e funcionais dos sensores e das antenas de transmissão, levantamento topográfico georreferenciado das áreas de pastagem a serem cobertas e definição da arquitetura de rede *mesh* para conexão entre sensores, antenas e a rede mundial de computadores. A rede *mesh* se caracteriza por ser composta por vários roteadores (“nós” ou *gateways*). Os *gateways* têm a função de repetidores e, por isso, sua interconexão faz com que se comportem como uma única e grande rede, possibilitando a transmissão de mensagens por diferentes caminhos e também a conexão do usuário a qualquer um destes nós. Nesta fase, colaboraram pesquisadores, analistas e técnicos da

Embrapa Pecuária Sudeste em associação à CowMed, empresa responsável pelo desenvolvimento do protocolo de comunicação e dos sensores de monitoramento animal com tecnologia nacional.

### 2.3. Implantação de Receptores a Campo

Após a fase de planejamento, iniciou-se em janeiro de 2017 a fase de implantação, quando a rede *mesh*, ou seja, em formato de malha, foi fisicamente instalada nas áreas de pastagem. Sua infraestrutura foi instalada sobre cocho de suplementação mineral (Figura 1A) e estabelecida por 10 *gateways* de comunicação, os quais compunham estações para captação de dados dos sensores e sua retransmissão. As antenas captadoras/transmissoras apresentavam raio de cobertura de 150 metros, suficiente para o direcionamento das informações captadas pelos sensores dos animais para uma única central eletrônica de processamento via *wireless*. Os sensores que monitoram o comportamento dos bovinos eram dispositivos eletrônicos vestíveis, que foram acoplados a colares nos animais. Para a decodificação dos pacotes de dados transmitidos pelos sensores, adotou-se *software* analítico do comportamento de bovinos (C-Manager, CowMed, Brasil), que informa o tempo dedicado pelo animal para ruminção, atividade e ócio. Ao conjunto implantado, cuja efetiva conexão alcançou a cobertura de área total de 30 hectares, deu-se a denominação de “Versão 1.0”.



Figura 1. (A) Base autônoma de geração de energia fotovoltaica e antena para transmissão de dados de comportamento de bovinos de corte, em área de pastagem, instaladas sobre cocho de suplementação mineral. (B) No detalhe, circuito para armazenamento e fornecimento de energia elétrica, com quadro de comando composto por bateria, inversor e controlador de carga. (C) Mapa da área experimental indicando a estrutura atual da rede.

### 2.4. Fase de Energização

Paralelamente à implantação dos receptores a campo, foi executada a fase de provimento de energia elétrica estrutura do *hardware*. Optou-se pela instalação de bases fotovoltaicas a campo para fornecer energia à rede de comunicação. Para cada antena receptora, foi instalada uma base fotovoltaica contendo quatro componentes básicos: (1) painel solar com máxima potência ( $P_m$ ) de 150 Watts, com voltagem máxima de 600 Volts, e dimensões de 147x68x2,5 cm, suportando cargas de ventos de 2,4 k Pa. (2) Inversor com transformação de 12V para 220V com potência de 400W. (3) Controlador de carga de 20A - 12/24 Volts programável que detecta a tensão automaticamente, com carga máxima de 20A, tensão de 12V-24V, à prova d'água com proteção contra sobrecarga. (4) Bateria com tensão de 12V, recarregável e com capacidade de 70Ah para descarga em 100h (C100) e 60Ah em 20h a (C20), com tampa selada e filtro antichamas (Figura 1B). Cada base fotovoltaica foi capaz de gerar energia para uma das antenas de transmissão, que estavam posicionadas nos centros de manejo, considerados pontos estratégicos (Figura 1C). Adicionalmente, foi realizada a instalação de amplificadores, que triplicaram a potência de transmissão individual das antenas, vencendo a questão da barreira arbórea e alcançando até 700m em campo aberto, sem interferências.

### 2.5. Adoção Experimental e Aprimoramento

Os experimentos de monitoramento remoto de animais a campo com uso da tecnologia ocorreram efetivamente a partir de maio de 2017, cujos detalhes são relatados na próxima seção.

### 3. Resultados e Discussão

Após a implantação da infraestrutura física e de conectividade da rede, foi realizado o primeiro experimento, de maio a junho de 2017, durante 33 dias consecutivos, apenas na área sem arborização. Este foi usado como forma de teste quanto à regularidade da geração de energia elétrica pelas bases fotovoltaicas, à estabilidade de fornecimento de energia e à captação dos dados dos animais a campo. Para tal, oito fêmeas bovinas primíparas de corte da raça Canchim foram lotadas em área de pastagem sem arborização e permanentemente monitoradas, com sucesso. Os resultados técnicos foram publicados e se encontram em base aberta para consulta (GARCIA et al., 2018). De setembro a dezembro de 2017, foi realizado um segundo experimento que compreendeu o monitoramento por 94 dias consecutivos, de animais lotados em pastagens sem arborização ou em ILPF. Neste, foram monitoradas com sucesso 25 novilhas de corte da raça Canchim, tendo sido os resultados também publicados (BARRETO et al., 2019). A rede de monitoramento do comportamento animal foi eficiente na coleta e disponibilização dos dados, os quais podem ser exportados em planilhas de dados brutos ou visualizados em painel de controle que individualiza os animais e apresenta o perfil de seu comportamento (Figura 2A). No ano de 2018, iniciou-se um novo experimento a campo com 64 animais, de maior complexidade, o qual se encontra em curso e tem previsão de duração de 360 dias.

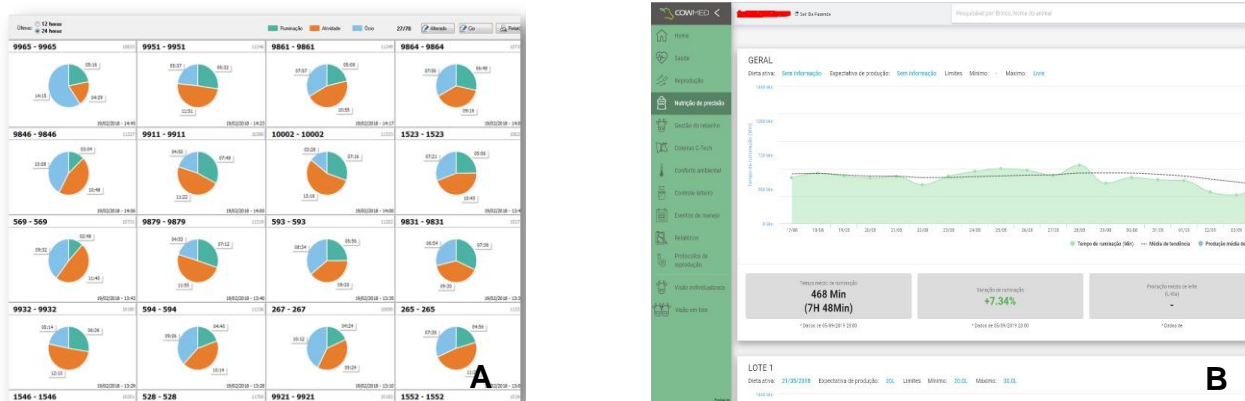


Figura 2. Painel de controle de informações dos softwares utilizados (A) na Versão 1.0 (C-Manager, CowMed, Brasil) e (B) na Versão 2.0 (SmartFarm, CowMed, Brasil).

Após dois anos de uso da “Versão 1.0” do sistema, verificou-se a necessidade de sua modernização, a fim de aumentar a flexibilidade de uso. Na versão primária, o provimento de energia dependia da presença de inversores de voltagem, que foram suprimidos após a adaptação dos *gateways* para uso de energia com corrente contínua (*DC - direct current*) na nova versão. Ainda, o acesso dos usuários era limitado a um computador habilitado, conectado a uma única central de armazenamento de dados, o que impunha certa restrição de tráfego de informações, pois necessariamente direcionava os dados a esta central, antes de serem disponibilizados na rede mundial. Isso conferia, também, maior risco de inatividade temporária, em caso de pane no computador habilitado. Assim, o *upgrade* do sistema ocorreu em duas frentes distintas: a primeira deu-se pela melhoria da rede de transmissão, com a implantação de antenas mais potentes e estáveis, e de um *gateway* adicional; a segunda ocorreu pelo aperfeiçoamento do software, que trouxe nova interface e funcionalidades. Isso permite que o usuário acesse as informações em tempo real, de qualquer lugar via internet, com acesso ilimitado via dispositivos móveis, como *smartphones*, *tablets*, *notebooks* ou ainda usando *desktop*, sem precisar habilitar seu(s) equipamento(s), o que potencializa a conectividade e o acesso à informação. Os requisitos mínimos para dispositivos móveis são sistema operacional Android ou iOS, tela mínima de 4", 8GB de

armazenamento e conexão com a rede mundial de computadores. Esta versão do sistema foi denominada de “Versão 2.0”. O *software* atualmente em uso (SmartFarm, CowMed, Brasil) foi desenvolvido para que os usuários tenham acesso rápido aos alertas, relatórios e registro de informações do dia a dia de cada animal (Figura 2B). Esse *upgrade* não afetou a eficiência de captação de energia fotovoltaica, nem impactou no consumo de energia requerida para o funcionamento da rede. Considerando o início dos trabalhos com a nova configuração da rede e do *software*, contínua observação é requerida quanto aos pontos de interesse já estudados na versão anterior, a fim de verificar a efetividade de seu funcionamento. De antemão, a possibilidade de acesso via multidispositivos móveis e a conexão desvinculada de uma única central de acesso indicam flexibilização desejável.

#### 4. Conclusão

Com base no ciclo inicial de uso da rede de comunicação de primeira geração, que compreendeu as fases de implantação, energização autônoma fotovoltaica, captação e transmissão de dados tempo real, foi possível observar um ganho incremental no monitoramento remoto de bovinos de corte mantidos a pasto, aplicado em nível experimental. A captação de dados oriundos dos animais, realizada ininterruptamente e em tempo real, é uma forma de ampliar o controle sobre o rebanho, possibilitando a geração de informações que permitem não somente a supervisão do quantitativo de animais dentro de um sistema de produção, mas também a descrição do padrão de atividades de cada indivíduo. Com o avanço diário dentro do ambiente da tecnologia da informação, vale salientar que a mudança nos padrões de *hardwares*, *softwares* e tráfego de dados faz com que a realidade tecnológica da pecuária de precisão seja extremamente dinâmica, o que requer constante atualização não somente dos sistemas computacionais, mas também das equipes multidisciplinares desenvolvedoras de recursos avançados para auxiliar a tomada de decisão em relação ao manejo dos animais.

#### Agradecimentos

À Embrapa (Projetos BIOTEC #01.13.06.001.05.00 e Pecuária de Precisão #01.14.09.001.03.03), ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (TED #50/2016), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP (Processo 2019/04528-6) e à Associação Rede ILPF (Edital 001/2019) pelos recursos financeiros. À Cow Med (Santa Maria-RS, Brasil) e equipe pelo apoio logístico na implantação e suporte do sistema de monitoramento animal.

#### Referências

- BARRETO, A.N.; GARCIA, A.R.; BERNARDI, A.C.C.; PEZZOPANE, J.R.M.; ROMANELLO, N.; SOUSA, M.A.P. Monitoramento eletrônico do comportamento de novilhas de corte mantidas em sistema de ILPF. In: XXIX Congresso Brasileiro de Zootecnia-Zootec 2019, Uberaba, 2019.
- BERCKMANS, D. Precision livestock farming technologies for welfare management in intensive livestock systems. *Revue Scientifique et Technique*, v.33, n.1, 189-196, 2014.
- BERNARDI, A.C.C.; NAIME, J.M.; RESENDE, A.V.; BASSOI, L.H.; INAMASU, R.Y. Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar. Brasília, DF: Embrapa, 596 p., 2014.
- GARCIA, A.R., GIRO, A., BERNARDI, A.C.C., PEZZOPANE, J.R.M., PEDROSO, A.F., GUIMARAES, E.S., MENDES, E.D.M., LEMES, A.P., ROMANELLO, N., BOTTA, D. Comportamento de fêmeas bovinas de corte em pastagens sem arborização, avaliado por sistema *wireless* de monitoramento. *Circular Técnica* 82, CPPE:São Carlos, p.9, 2018. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1100677/1/Circular82.pdf>
- HOGVEEN, H.; KAMPHUIS, C.; STEENEVELD, W.; MOLLENHORST, H. Sensors and clinical mastitis - The quest for the perfect alert. *Sensors*, v.10, p.7991-8009, 2010.
- STEENEVELD, W.; HOGVEEN, H. Characterization of Dutch dairy farms using sensor systems for cow management. *Journal of Dairy Science.*, v.98, p.709-717, 2015.
- STEENEVELD, W.; VERNOOIJ, J.C.M.; HOGVEEN, H. Effect of sensor systems for cow management on milk production, somatic cell count, and reproduction. *Journal of Dairy Science*, v.98, p.3896-3905, 2015.

**PROJETO E TESTES PRELIMINARES DE PROTÓTIPO PARA MONITORAMENTO DE ENCOSTA EM ATERRO SANITÁRIO**

L. MEIRELLES<sup>1</sup>, C. GADELHA<sup>1</sup>, M. OLIVEIRA<sup>1</sup>, T. GUIMARAES<sup>1</sup>, I. LACHE<sup>1\*</sup>, M. CATALDI<sup>1</sup>, J. MONDINI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Fluminense, Rua Passo da Pátria, 470, 24210240, Niterói, Rio de Janeiro

<sup>2</sup> Foxx Haztec, Rua Joaquim Palhares, 40, 1º andar, 20260080, Rio de Janeiro

\* Autor correspondente, e-mail: ilache@id.uff.br

**Resumo:** O trabalho a seguir apresenta testes e medições feitos em um protótipo de baixo custo projetado para monitorar a estabilidade de encostas dentro de um aterro sanitário. Foram realizados três testes para verificar a sensibilidade do sensor, a estabilidade do software e a comunicação via rádio. Além disso, verificou-se o consumo de energia do protótipo durante as atividades.

**Palavras-chave:** monitoramento ambiental, deslizamento, aterro sanitário, protótipo.

**PROJECT OF A PROTOTYPE FOR SANITARY LANDFILL SLOPE MONITORING**

**Abstract:** The following work presents measures made by a low-cost prototype projected to monitor the slope of a sanitary landfill. Three tests were made to check the sensor's sensibility, the software stability and the communication via radio. Besides that, the energy consumption of the prototype during the activities was verified.

**Keywords:** environmental monitoring, landslide, sanitary landfill, prototype

**1. Introdução**

O monitoramento de movimento em aterros sanitários deve ser realizado frequentemente para diminuir os fatores de risco visto que pode alertar aos operadores sobre as medidas de correção ou emergenciais a serem adotadas. De acordo com Thiago Campi (2017), um dos maiores problemas em relação às rupturas de encostas em aterro sanitário acontece porque há pouco monitoramento, apesar dos cálculos previamente feitos. (CAMPI; THIAGO, 2017). Embora necessário, um dos fatores limitantes dos sistemas de monitoramento é o seu custo, consequentemente, devem-se desenvolver produtos e protótipos de valor acessível para aumentar a frequência de monitoramento.

Nesse projeto, está sendo desenvolvido um protótipo de baixo custo no Laboratório de monitoramento e modelagem de sistemas climáticos (LAMMOC) na Universidade Federal Fluminense (UFF). O projeto é realizado em cooperação e patrocínio da empresa Haztec, responsável por um aterro sanitário de São Gonçalo, Rio de Janeiro. Na universidade, estão sendo feitos testes, cálculos, observações e análise de dados para o protótipo, enquanto a Haztec fornecerá os dados do monitoramento tradicional e regular que a empresa fará da área onde o protótipo será instalado, sendo este feito através de comparação de fotos da posição de marcos superficiais georreferenciados em determinado período de dias. Atualmente, a criação de softwares de modelagem de movimentação do solo requer uma aquisição de dados constante, entretanto a instrumentação desse sistema é cara, inviabilizando todo o projeto. Dessa, forma, busca-se, portanto, com este projeto criar um sensor de movimentação de massa de baixo custo que seja eficaz, e que emita dados de forma constante e em tempo real. Sendo o objetivo do projeto é instalar dois sensores na encosta do aterro sanitário, para realizar uma campanha de medição de 30 dias, desta forma será possível verificar a performance desses sensores e por final, comparar os dados com as medições feitas pela Haztec.

## 2. Materiais e Métodos

Um acelerômetro com giroscópio que detecta movimento da encosta nos eixos X, Y e Z é o componente principal do sensor. O sensor utiliza um conversor análogo digital de 16bits, gerando dados desde 0 até aproximadamente 65000 para as diversas configurações de leitura. O modelo deste sensor é o MPU6050 e pode ser visto na Figura 1. Adicionalmente o protótipo utiliza uma placa de rádio LORA (Ver Figura 2), que é um dispositivo de comunicação sem fio com baixo consumo de energia, este módulo permitirá o envio de informações desde o sensor até a base de operação.

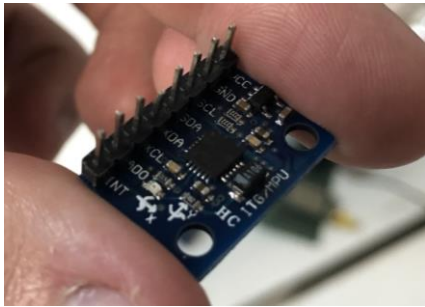


Figura 1. Módulo do acelerômetro



Figura 2. Placa de Rádio LORA

Como elemento para o registro de dados é utilizado um relógio em tempo real (RTC DS3231 *Real Time Clock*). O RTC pode ser visto na Figura 3. Finalmente, como componente de operação e de controle será utilizado uma placa Arduino Uno (Figura 4), a função do microcontrolador será registrar os valores medidos pelo sensor e encaminhar as leituras para a estação base.

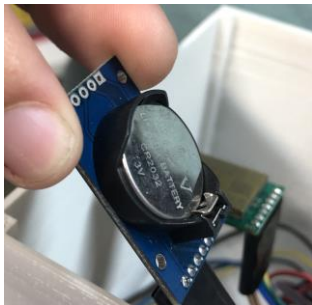


Figura 3. RTC DS3231



Figura 4. Placa Arduino

### 2.1 Análise dos dados

O protótipo para medição da movimentação do aterro foi testado entre os dias 24 e o dia 28 de abril de 2019. Foram realizados três testes (denominados A, B e C) para verificar a sensibilidade do sensor, a estabilidade do software e a comunicação via rádio. Ao mesmo tempo, foi verificado o consumo de energia do protótipo durante todas as atividades.

#### 2.1.1 Teste A

O Teste A teve uma duração aproximada de 18h numa bancada de testes, com o objetivo de aferir a sensibilidade do sensor e o tempo de resposta. O protótipo registrou os valores gerados pelo sensor a cada 5 minutos. Os valores que foram gravados correspondem ao valor digital da aceleração. Numa etapa de pós processamento esses valores foram atrelados a unidades de aceleração no software. O equipamento só foi movimentado em dois instantes de tempo modificando assim a posição do sensor. A Figura 5 apresenta a mudança de valores de aceleração em  $A_x$ ,  $A_y$  e em  $A_z$ , estas mudanças aconteceram logo no início do teste e coincidem com o horário de modificação de posição do sensor. Posteriormente, aproximadamente às 17:30h foi modificada

novamente a posição do sensor. Desta vez foi realizada uma mudança que exige que todas as leituras de aceleração mudassem de valor.

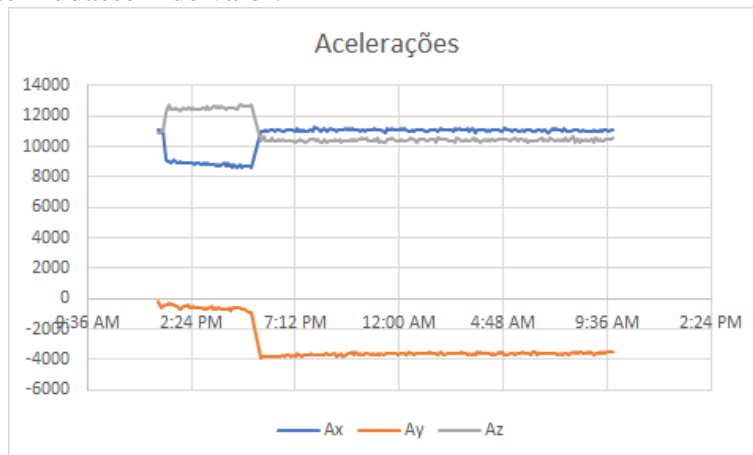


Figura 5. Teste A, dados as acelerações lidas

Durante o Teste A, os valores lidos pelo giroscópio acoplado ao sensor foram registrados com a mesma periodicidade. Os dados mostram uma oscilação dos valores lidos, contudo, a faixa de valores é inferior aos valores lidos pelo acelerômetro. Os valores são apresentados na Figura 6 e apresenta valores da faixa de 150 e 100, valores muito inferiores ao limite máximo do sensor que é de 65000.

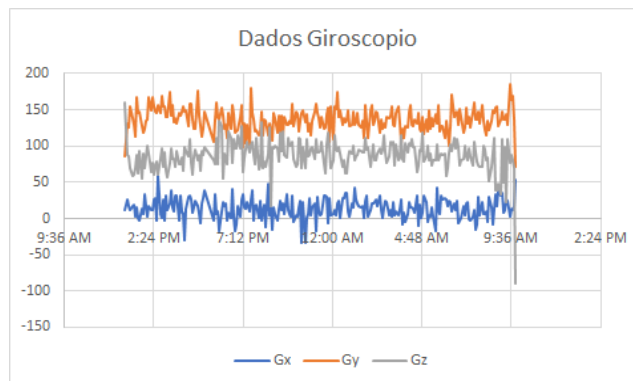


Figura 6. Valores lidos pelo giroscópio

### 2.1.2 Teste B

Neste teste o objetivo era verificar se o software conseguiria armazenar os dados de forma ordenada. Para simular os trinta dias de teste no aterro sanitário, foram necessários três dias realizando leituras a cada 5 minutos.

Os resultados são apresentados na Figura 7 e Figura 8.

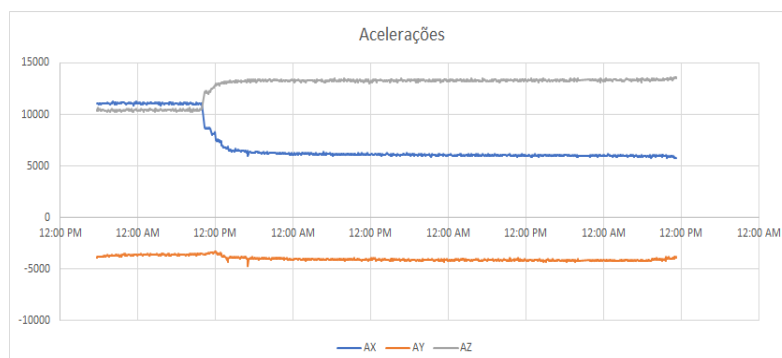


Figura 7. Teste B, dados dos valores das acelerações



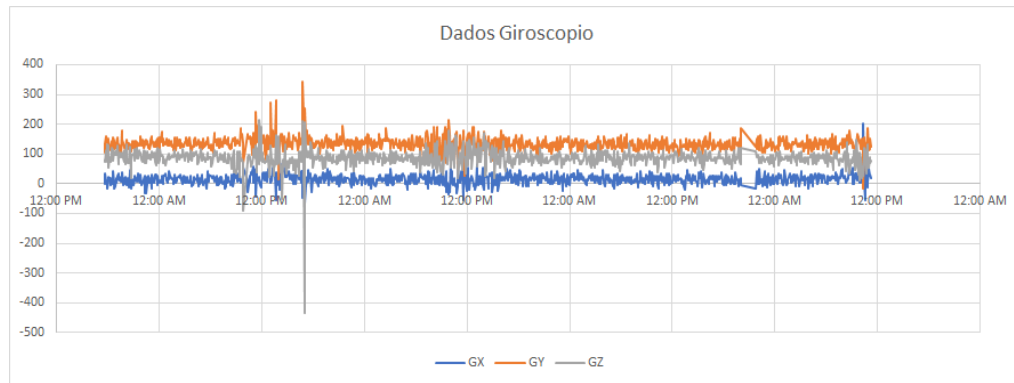


Figura 8. Teste B, dados dos valores do giroscópio

### 2.1.3 Teste C

O último teste realizado verificou a aplicação dos módulos de comunicação LORA para o envio dos valores lidos pelo protótipo. Desta forma foi confirmado que os dados foram encaminhados e lidos de forma correta durante os testes. Os valores enviados foram os valores sem tratamento de nenhum tipo (valores crus). O tratamento destes valores será feito pela estação base, ou feito de forma offline pela equipe de trabalho.

## 3. Resultados e Discussão

A partir dos resultados dos testes de sensibilidade do sensor MCU6050, pode-se afirmar que o sensor será capaz de detectar desde os movimentos mais sutis e pequenas ranhuras que antecedem eventos de deslizamentos, do tipo Translacional que são rupturas que podem ocorrer em Aterros, segundo Dixon e Jones (2004). No teste em questão o sensor mostrou-se sensível a variações de aceleração, inclinação e rotação. O protótipo originalmente desenvolvido consome em torno de 70mAh quando operado a 5v. Este consumo é considerado relativamente alto para um equipamento de uso remoto, assim, a equipe do projeto decidiu implementar modos de operação que permitam diminuir o consumo de energia. Estes ciclos permitiram deixar o protótipo em modo de Baixo Consumo (BC) durante uma hora, realizar as medições, encaminhar os dados e voltar ao modo de BC. Com os ajustes realizados o consumo atual da placa é de aproximadamente 43 mAh. Com este consumo uma bateria de 9v seria consumida em aproximadamente 14h, dado este cenário, o projeto agora contará com um sistema de painel solar e bateria para conseguir realizar a operação ao longo do período de testes.

## 4. Conclusões

O software desenvolvido permitiu a leitura de acelerações em um teste acelerado de três dias que simula o trabalho que será realizado ao longo do mês de monitoramento. A sensibilidade do sensor foi aferida no Teste A. Isso permite afirmar que o sensor se encontra trabalhando conforme as especificações do fabricante. Durante o Teste B foi simulado o comportamento do sistema para manipular a quantidade de informação que será coletada ao longo de um mês de operação. Os resultados foram satisfatórios. Finalmente, o Teste C confirmou que os módulos de comunicação LORA consegue encaminhar os dados de aceleração obtidos pelo protótipo. O próximo teste (D) a ser realizado deverá ocorrer com todo o sistema funcionando em um aterro sanitário com dois módulos de sensores implantados em pontos próximos a marcos superficiais que são referência para a detecção de movimento de massa atualmente.

Destarte, conclui-se que a implementação do sistema de monitoramento deverá ser eficaz para detectar o movimento de massa do tipo translacional, que segundo KOERNER E SOONG (1999) são os mais comuns para esse tipo de catástrofe. Além disso, a implementação desse sistema criará uma base de dados que contribuirá para a modelagem da estabilidade do solo de aterros sanitários, podendo assim melhorar as previsões e fazê-las com mais antecedência diminuindo o tempo de resposta de ações mitigadoras e preventivas.

### Agradecimentos

À empresa Foxx Haztec pelo Patrocínio a este projeto assim como ao Laboratório de Modelagem e Monitoramento de Sistemas Climáticos (LAMMOC) da Universidade Federal Fluminense (UFF).

### Referências

- BENVENUTO, Clovis. **Estabilidade geotécnica de aterros sanitários**. Campinas: I Seminário Sobre Geotécnica dos Resíduos Sólidos Urbanos, 2012. 62 slides, color.
- CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 7., 2016, Campina Grande. **guia para monitoramento ambiental em aterros sanitários**. Campina Grande: Ibeas, 2016. 8 p.
- CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 7., 2016, Campina Grande. **Monitoramento Ambiental e Geotécnico de Aterros Sanitários**. Campina Grande: Ibeas, 2016. 8 p.
- DIXON, N, JONES, D.R.V., 2004, Engineering properties of municipal solid waste. accepted 26 November 2004". In: Nottinghamshire, NG12 5BL, UK.
- KOERNER, R.M., SOONG, T.Y., 1999, Leachate in landfills: the stability issues, Geotextiles and Geomembranes, n. 18, pp. 293-309. accepted 23 October 1999.
- REMÉDIO, Flávio Henrique. **Análise de estabilidade de taludes de aterro de resíduos urbanos utilizando parâmetros geotécnicos de propostas bibliográficas e correlações com Nspt**. 2014. 131 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Geociências, Unesp, Rio Claro, 2014.
- SHIMAZAKI, Leticia Rie. **Análise de estabilidade de aterro de resíduos: Sólidos antigos**. 2017. 113 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Ambiental, Usp, São Carlos, 2017.

## UTILIZAÇÃO DO CIRCUITO INTEGRADO HX711 EM SISTEMAS DE AQUISIÇÃO DE DADOS PARA LISIMETRIA DE PESAGEM

J. A. Reis<sup>1,\*</sup>, L. M. Vellame<sup>2</sup>, A. M. Amaral<sup>3</sup>, L. B. Marinho<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Instituto Federal Baiano (IF Baiano), Campus Governador Mangabeira, Rua Waldemar Mascarenhas, S/N, 44350-000, Governador Mangabeira, Bahia

<sup>2</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Núcleo de Engenharia de Água e Solo, Rua Rui Barbosa, S/N, 44380-000, Cruz das Almas, Bahia

<sup>3</sup> Instituto Federal do Norte de Minas Gerais (IFNMG), Campus Arinos, Rodovia MG-202, KM-407, 38680-000, Arinos, Minas Gerais

<sup>4</sup> Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Campus III, Departamento de Tecnologias e Ciências Sociais, Av. Dr. Edgard Chastinet, S/N, 48900-000, Juazeiro, Bahia

\* Autor correspondente, e-mail: jebes.reis@ifbaiano.edu.br

**Resumo:** Sendo um dos métodos mais confiáveis para mensuração da evapotranspiração, a lisimetria de pesagem depende de maneira intrínseca da resolução e estabilidade do sistema de aquisição de dados para a obtenção de medições confiáveis. Empregando um circuito de alta resolução e baixo custo, o presente trabalho objetivou a avaliação do circuito integrado HX711 quanto a sua estabilidade, resolução e precisão quando empregado à medição em sistemas de lisimetria. Através de testes de bancada em laboratório e experimento em campo de longa duração foi possível constatar a viabilidade de aplicação do componente proposto em sistemas de aquisição de dados com um alto grau de confiabilidade.

**Palavras-chave:** evapotranspiração, conversor ad, medição de massa, incerteza, acurácia.

### **USING HX711 INTEGRATED CIRCUIT IN WEIGHT LYSIMETRY DATA ACQUISITION SYSTEMS**

**Abstract:** As one of the most reliable methods for measuring evapotranspiration, weighing lysimetry depends intrinsically of the resolution and stability of the data acquisition system to obtain reliable measurements. Using a high resolution and low cost circuit, the present work aimed to evaluate the HX711 integrated circuit for its stability, resolution and accuracy when used for measurement in lysimetry systems. Through laboratory bench tests and long-term field experiment, it was possible to verify the feasibility of applying the proposed component in data acquisition systems with a high degree of reliability.

**Keywords:** evapotranspiration, ad converter, mass measurement, uncertainty, accuracy.

### **1. Introdução**

Tendo como princípio de funcionamento a utilização de células de cargas para medir a variação de massa em volumes definidos de solo, a lisimetria de pesagem é considerada como um dos sistemas mais confiáveis para mensuração do teor de água do solo e da evapotranspiração (Allen et al., 2011). Esta confiabilidade pode ser atribuída principalmente à utilização de sistemas automáticos de aquisição e armazenamento de dados, possibilitando a medição em intervalos de tempo cada vez menores e o armazenamento destas medições por longos períodos (Schmidt et al., 2013). Outros elementos relevantes para confiabilidade de um sistema de lisimetria de pesagem são resolução e estabilidade das medições, os quais estão intrinsecamente relacionadas ao circuito de leitura dos sinais das células de carga (Amaral et al., 2018).

Desenvolvido para sistemas de medição de massa, o circuito integrado HX711 dispõe de conversor analógico-digital com ganho programável e resolução de 24 bits; com 2 canais para medição, possibilita leituras diferenciais nas faixas de -20mV a 20mV para o canal A e -40mV a 40mV para o canal B (Avia Semiconductor, 2012). A alta resolução do circuito o torna potencialmente vantajoso em aplicações de lisimetria, onde são empregadas plataformas de alta capacidade para leitura de pequenas variações de massa.

Objetivando a obtenção de um sistema de aquisição de dados preciso e de baixo custo, o presente estudo buscou avaliar a acurácia e a estabilidade das medições utilizando o circuito integrado HX711.

## 2. Materiais e Métodos

O HX711 foi avaliado a partir de um módulo disponível comercialmente que implementa exatamente o circuito proposto no *datasheet* do referido CI. Foram confeccionados 3 unidades de um circuito empregando a ponte de Wheastone para simular as variações dos extensômetros das células de carga e limitar as faixas de tensão do sinal de saída para os limites descritos pelo *datasheet* para cada canal de leitura do circuito integrado HX711. As medições efetuadas através do CI avaliado e os sinais de saída da ponte de Wheastone foram armazenados em um datalogger do modelo CR800 da Campbell Scientific.

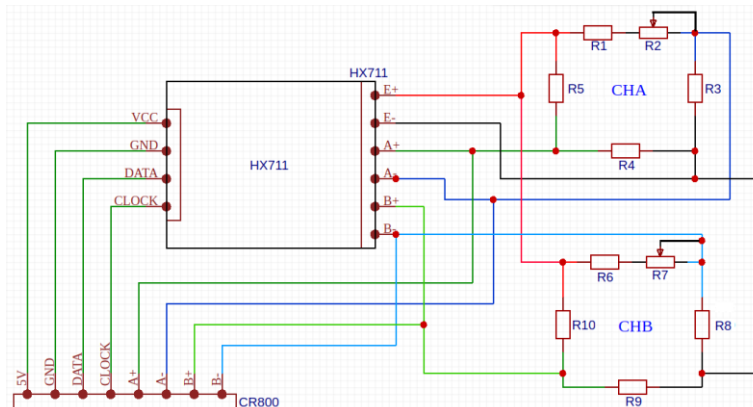


Figura 1. Esquema do circuito para avaliação do CI HX711

Utilizando as 3 unidades do circuito descrito na figura 1, foram realizados 3 ciclos de variação dos potenciômetros R2 e R7, variando o sinal de saída para abranger toda a amplitude entre os limites de leitura de cada canal, sendo estes, canal A: -20mV a 20mV e canal B: -40mV a 40mV. Os valores dos sinais de saída foram medidos e armazenados em milivolts (mV), já as medições efetuadas através do HX711 foram armazenadas em valores percentuais relativos ao fundo de escala das medidas do conversor analógico-digital (24 bits).

A partir da coleta dos dados armazenados, os mesmos foram tabulados em planilhas e submetidos a análise de regressão linear simples, produzindo modelo de calibração e o valor de erro estatístico para cada circuito de teste, posteriormente os dados foram agregados para a produção dos modelos de calibração de cada canal, bem como seus respectivos erros estatísticos.

Com o intuito de avaliar a estabilidade no funcionamento deste componente em campo, empregou-se o mesmo modelo de módulo utilizado nos testes de bancada em um sistema automático de aquisição de dados de um lisímetro instalado em campo, armazenando os dados em um datalogger modelo CR800 da Campbell Scientific. O lisímetro instalado na Universidade Estadual da Bahia (UNEB – Juazeiro) mediu a evapotranspiração da cultura do mamão. Este apresentava dimensões de 2,0x1,5x1,40m, construído em chapa galvanizada, com um sistema de pesagem através de 4 células de carga, modelo I5T, da Alfa Instrumentos, com capacidade de 5 toneladas, cada (Figura 2).



Figura 2. Lisímetro de pesagem utilizado para avaliação. Juazeiro –BA 2017.

### 3. Resultados e Discussão

A partir da tabulação dos dados obtidos para cada circuito de avaliação temos os seguintes dados em relação ao erro estatístico:

Tabela1. Erro estatístico em cada circuito de teste

Circuito	Canal A (%)	Canal B (%)
1	0,0029764	0,0000010
2	-0,0001260	0,0000003
3	0,0023820	0,0009427

Após agregação dos dados a calibração para cada canal foi modelada conforme os seguintes gráficos.

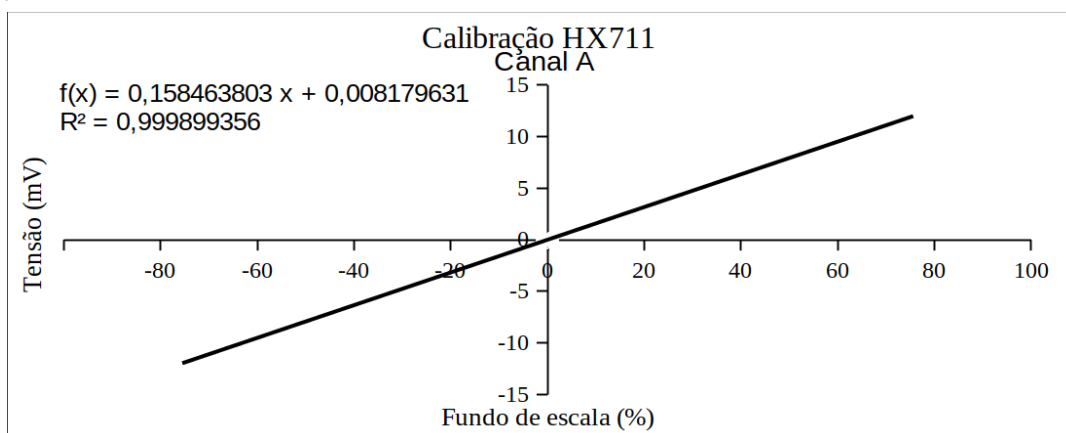


Figura 3. Curva de calibração para o canal A

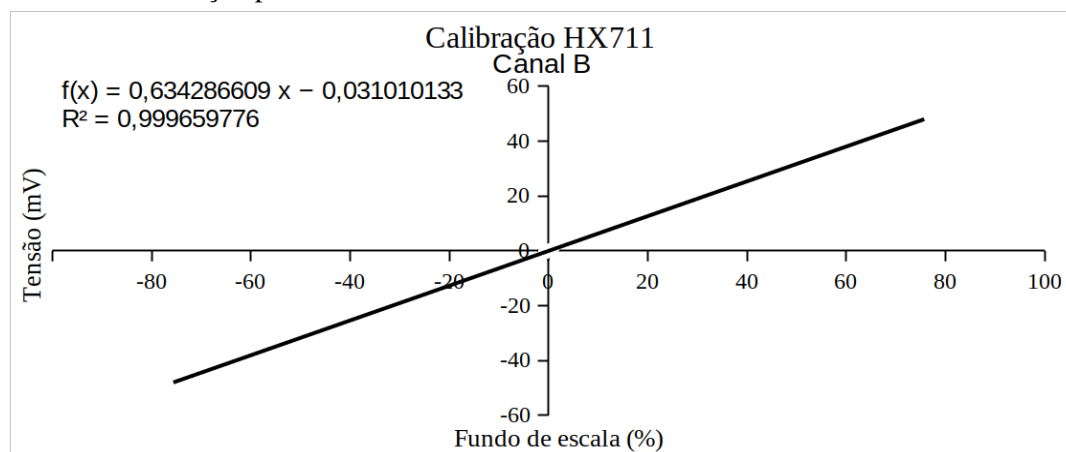


Figura 4. Curva de calibração para o canal B

A partir dos dados consolidados, os erros estatísticos calculados para as curvas de calibração dos canais A e B foram, respectivamente,  $-0,002425\%$  e  $-0,000054\%$ . Tomando como base a acurácia das leituras analógicas dos dataloggers CR800 e CR1000 da Campbell Scientific, que segundo a folha de especificações é de  $0,06\%$  (para faixa de temperatura entre  $0^\circ$  e  $40^\circ\text{C}$ ), nota-se que o circuito HX711 proporciona alta precisão em suas medições, principalmente devido a sua alta resolução na conversão de sinais analógicos para digital. O erro determinado para cada um dos 3 circuitos de teste, bem como o erro final de cada modelo de calibração foi consideravelmente baixo e desprezível para aplicações de lisimetria.

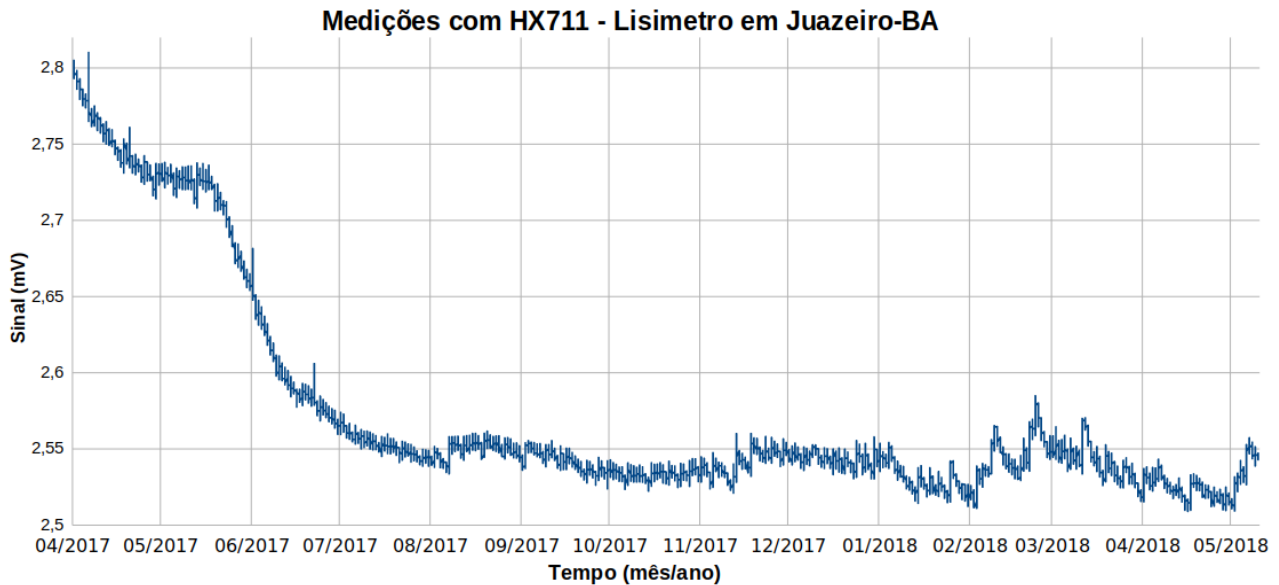


Figura 5. Gráfico com medições ao longo do tempo

Medições efetuadas no sistema em campo evidenciam a estabilidade no funcionamento do circuito, o qual operou de maneira ininterrupta no período de 02/04/2017 a 10/05/2018. Durante os 403 dias em que o experimento esteve em campo o módulo HX711 mediu continuamente o sinal de saída do lisímetro, medições estas que foram agregadas em médias a cada 15 minutos e viabilizou a mensuração da evapotranspiração de referência do local.

Devido a sua alta precisão e baixa complexidade de utilização, torna-se consideravelmente viável o emprego deste componente nos sistemas de aquisição de dados uma vez que uma série de outros componentes, e conseqüentemente uma série outras fontes de erros, tornam-se desnecessários para medição precisa dos sinais das células de carga.

#### 4. Conclusões

O circuito integrado HX711 é viável para utilização em sistemas de aquisição de dados para lisimetria de pesagem, proporcionando soluções de baixo custo, baixa complexidade, alta estabilidade e alta precisão.

A facilidade de utilização, o baixo custo e a confiabilidade deste circuito possibilita a construção de sistemas de aquisição de dados mais simples e baratos, viabilizando maior número de medições.

#### Agradecimentos

Agradeço ao Professor Orientador por todo o apoio e colaboração, ao Núcleo de Engenharia de Água e Solo da UFRB pela estrutura disponível e pelo apoio acadêmico e aos demais colegas colaboradores pela grande contribuição em utilizar o sistema proposto em seus campos experimentais.

**Referências**

- ALLEN, R. G.; PEREIRA, L. S.; HOWELL, T. A.; JENSEN, M. E. Evapotranspiration information reporting: I. Factors governing measurement accuracy. *Agricultural Water Management*, v. 98, n. 6, p. 899-920, 2011.
- AMARAL, A. M.; CABRAL FILHO, F. R.; VELLAME, L. M.; TEIXEIRA, M. B.; SOARES, F. A.; SANTOS, L. N. S. Uncertainty of weight measuring systems applied to weighing lysimeters. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 145, p. 208-216, 2018.
- AVIA Semiconductor, 2012. HX711: 24-Bit Analog-to-Digital Converter (ADC) for Weigh Scales. Disponível em: <[https://cdn.sparkfun.com/datasheets/Sensors/ForceFlex/hx711\\_english.pdf](https://cdn.sparkfun.com/datasheets/Sensors/ForceFlex/hx711_english.pdf)>. Acesso em: 01 Ago. 2019.
- CAMPBELL Scientific, 2017. CR800 - Series Specifications. Disponível em: <[https://s.campbellsci.com/documents/us/product-brochures/s\\_cr800.pdf](https://s.campbellsci.com/documents/us/product-brochures/s_cr800.pdf)>. Acesso em: 15 Out. 2019.
- CAMPBELL Scientific, 2017. CR1000 Specifications. Disponível em: <[https://s.campbellsci.com/documents/us/product-brochures/s\\_cr800.pdf](https://s.campbellsci.com/documents/us/product-brochures/s_cr800.pdf)>. Acesso em: 15 Out. 2019.
- SCHMIDT, C. D. S.; PEREIRA, F. D. C.; OLIVEIRA, A. S.; JÚNIOR, J. F. G.; VELLAME, L. M. Design, installation and calibration of a weighing lysimeter for crop evapotranspiration studies. *Water Res. Irrig. Manag*, v. 2, p. 77-85, 2013.

**PRIMEIROS PASSOS DE AUTOMAÇÃO DE SISTEMA DE PULVERIZAÇÃO DE TRATOR PARA AGRICULTURA FAMILIAR**Y. L. Villacorta<sup>1</sup>, I. Lache<sup>1,\*</sup>, F. Castro<sup>1</sup><sup>1</sup> Universidade Federal Fluminense, Av. Passo da Pátria, 156, 24.210-240, Niterói, Rio de Janeiro

\* Autor correspondente, e-mail: ilache@id.uff.br

**Resumo:** O gerenciamento da aplicação de insumos é parte fundamental na qualidade de toda a cadeia produtiva na agricultura como, por exemplo, o uso da água na irrigação. Considerando o cenário da agricultura familiar, percebe-se a demanda por suporte e pesquisa de novas tecnologias de baixo custo a fim de contribuir com novas abordagens na produção. Objetivou-se então o estudo da utilização de equipamentos de baixo custo juntamente com o georreferenciamento para elaborar uma alternativa no controle da água de irrigação, assim como do uso de insumos pulverizantes. Foram encontrados então no Arduino e no QGIS, as tecnologias de baixo custo que disponibilizaram um gerenciamento básico de quantidade de volume e vazão de insumos na irrigação, além de disponibilizarem visualmente no terreno por imagem de satélite tais valores. Por meio de um procedimento simplificado, é possível transmitir essas tecnologias para os agricultores familiares, juntamente com o apoio de associações, cooperativas ou técnicos capacitados, proporcionando o uso de insumos de forma que seja possível gerenciar de maneira mais adequada.

**Palavras-chave:** agricultura de precisão, baixo custo, IoT, instrumentação

**FIRSTS STEPS FOR AUTOMATION OF PULVERIZATION SYSTEM ON TRACTOR FOR FAMILY AGRICULTURE**

**Abstract:** Managing the application of agriculture inputs, such as the use of water for irrigation, is a fundamental part of the quality of the entire agricultural production chain. Family farming scenario demands for support and research for new low-cost technologies to contribute with new production approaches. The objective of this study was to study the use of low-cost equipment, combined with georeferencing system in order to develop an irrigation water controls. Arduino and QGIS were then found to be low-cost technologies that provided basic management tool of irrigation inputs. Through a simplified procedure, these technologies can be taught to family farmer members or small cooperatives in order to manage the agriculture inputs.

**Keywords:** precision agriculture, low-cost, IoT, instrumentation.

**1. Introdução**

O Agricultor Familiar no estado do Rio de Janeiro enfrenta diversos desafios quanto ao processo de cultivo de alimentos, sendo um deles o controle da utilização da água nas plantas. Verifica-se a necessidade do aperfeiçoamento da intervenção na produção que torne mais eficiente a aplicação da água, evitando desperdícios. Além disso, o correto uso de água impacta diretamente no desenvolvimento das plantas, podendo maximizar a produção se houver um maior controle desse recurso. Analogamente, outro desafio é o uso mais racional de defensivos pulverizados no combate a pragas e plantas indesejadas. A aplicação desregulada pode ocasionar mais gastos ou mesmo mais dívidas, assim como se for em excesso, tornar o alimento impróprio para o consumo.

O público-alvo em questão apresenta frequentemente baixo poder aquisitivo, baixa escolaridade e necessidade de assistência. Por isso, este trabalho busca propor uma alternativa de baixo custo e de compreensão facilitada para atenuar o uso impreciso da água e de defensivos agrícolas. Como plataforma de desenvolvimento da solução, foi definido a utilização do Arduino e de sensores de baixo custo adaptáveis ao mesmo.



Com a implantação desta solução, o pequeno agricultor terá maior controle sobre os produtos aplicados na lavoura, diminuindo assim o desperdício de insumos. Como benefício adicional, e levando em consideração que os dados serão georeferenciados, o agricultor saberá exatamente o histórico de aplicação de produtos, no qual esta simples informação permitirá melhorar a tomada de decisões futuras sobre o tratamento dado à lavoura.

## 2. Materiais e Métodos

O sistema idealizado para o sistema automatizado de irrigação conta com: Trator, sistema de controle baseado na placa Arduino UNO, sensor de vazão, eletroválvula, módulo datalogger e GPS. O sistema foi instalado no Trator Agrale 4100 foi verificado o funcionamento de todo o sistema utilizando a bateria do próprio trator. O trator e sensor utilizado pode ser visto na Figura 1.



a)



b)

Figura 1. a) Trator Agrale 4100 a) Sensor de Fluxo de Água 1/2" YF-S201b

Para iniciar esta validação, foi instalado um sensor de vazão no sistema de pulverização adaptado ao trator. Com o auxílio deste sistema, o Agricultor Familiar terá acesso à quantidade exata de produto que está sendo utilizada na sua propriedade, podendo assim avaliar corretamente se a aplicação do produto (água ou defensivo natural) está sendo dosado de forma adequada.

Para analisar os impactos causados pelo protótipo, numa segunda etapa do trabalho, será possível executar testes de vazão com valores georreferenciados. O objetivo é realizar mapas de aplicação de produtos utilizando o protótipo construído. Este tipo de equipamento permitirá minimizar os custos da produção já que o sensor fornece mecanismos para o produtor racionalizar a quantidade de ativo, água ou defensivo, necessários em cada metro quadrado da sua propriedade.

Trabalhos semelhantes têm sido desenvolvidos no país: no trabalho desenvolvido por Cunha e Rocha (CUNHA, 2015) é possível observar a preocupação dos autores com a implementação de sistemas de monitoramento de baixo custo para Agricultores Familiares. Assim, o trabalho foca no desenvolvimento de um sistema de irrigação totalmente baseado na plataforma Arduino.

Da mesma forma o Arduino tem sido utilizado em soluções semelhantes desenvolvidas para irrigação (BENYEZZA, 2018) (HAQUE, 2017) e agricultura inteligente (PATIL, 2016). Estas soluções mostram os usos e benefícios das plataformas abertas em projetos voltados para o pequeno agricultor.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Calibração em laboratório

O sensor de vazão foi calibrado em laboratório e em testes de campo. Os testes serviram para aferir se os limites de operação do trator são compatíveis com a faixa de operação do sensor de medição de vazão. A Figura 1 apresenta os dados obtidos do sensor de vazamento durante um desses testes. O teste apresentado foi realizado em aproximadamente 500 segundos, gerando aproximadamente 500 amostras de medição.

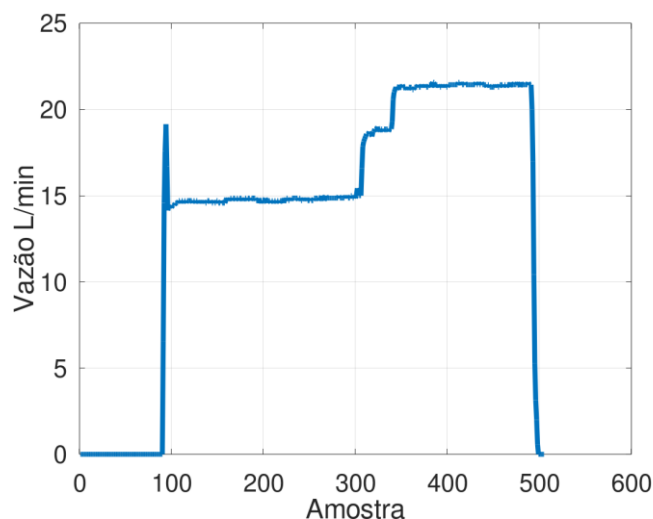


Figura 2. Resultados de teste de vazão.

A primeira fase de verificação foi realizada entre a amostra 100 e 300. Neste trecho do teste, a vazão do pulverizador se manteve estável em 15L/min. O erro médio durante este primeiro teste foi menor de 1.7%. No segundo trecho do teste, foi definida uma vazão média de 21L/min, a vazão aferida durante as amostras 360 até 480 gerou um erro médio menor de 1.8%.

### 3.2. Programação de testes futuros.

*Para verificar a efetividade da solução proposta, serão realizados 5 novos testes.*

1. Realizar testes em triplicata de vazão uma vez terminada a instalação do sistema no trator.
  - a. Será preenchido com água um reservatório de volume conhecido. Após isso, a moto-bomba em conexão com o reservatório bombeará a água para os pulverizadores. Entre a moto-bomba e os pulverizadores, está localizado o sensor de vazão utilizado para fazer as medições. Serão então realizadas medições para diferentes vazões no sistema, procurando assim verificar o funcionamento do sensor.
2. Verificar a compatibilidade do GPS para as medições de pulverização georreferenciada.
  - a. Na Universidade Federal Fluminense, está disponibilizado no Campus da Praia Vermelha uma área de gramado própria para atividades relacionadas ao Departamento de Engenharia Agrícola e Ambiental (TER). Este espaço será utilizado para realizar as medições.
3. Verificar se o consumo do insumo é compatível com a quantidade informada que foi aplicada
  - a. Será considerado como reservatório uma bombona de 200 L que compõe o pulverizador do experimento.

### 4. Conclusões

O sensor de medição de vazamento de água foi calibrado para os valores de operação de um trator de pequeno porte para trabalhos de pulverização, os erros obtidos durante os testes foram inferiores em média a 2%. O sensor foi instalado de forma permanente para verificar a durabilidade do mesmo e identificar o número de trabalho de pulverização que serão executados. Da mesma forma pretende-se adaptar um sistema de controle de vazão para permitir a aplicação de defensivo com taxa variável. Este equipamento poderá ser utilizado em uma abordagem inicial de agricultura de precisão para o pequeno agricultor.

### Agradecimentos

Agradecimentos ao Departamento de engenharia agrícola e ambiental da Universidade Federal Fluminense.

**Referências**

- BENYEZZA. H., BOUHEDDA. M., DJELLOUT. K. and SAIDI. A., "Smart Irrigation System Based Thingspeak and Arduino," *2018 International Conference on Applied Smart Systems (ICASS)*, Medea, Algeria, 2018, pp. 1-4. doi: 10.1109/ICASS.2018.8651993
- CUNHA, K. C. B. da; ROCHA, R. V. Automação no processo de irrigação na agricultura familiar com plataforma Arduino. RECoDAF – Revista Eletrônica Competências Digitais para Agricultura Familiar, Tupã, v. 1, n. 2, p. 62-74, jul./dec. 2015. ISSN: 2448-0452
- HAQUE K. M. R., MUYEED M. A., SADAT S. and PALIT R., "Jol-Shinchon: Design and development of a sensor based intelligent auto irrigation system," *2017 IEEE 7th Annual Computing and Communication Workshop and Conference (CCWC)*, Las Vegas, NV, 2017, pp. 1-5.
- PATIL. A., BELDAR. M., NAIK A. and DESPANDE S., "Smart farming using Arduino and data mining," *2016 3rd International Conference on Computing for Sustainable Global Development (INDIACom)*, New Delhi, 2016, pp. 1913-1917.



## **CAPÍTULO 3**

### **Avaliação de Impactos Socioeconômicos e Ambientais**



## ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA EM SOLOS FERTILIZADOS COM UREIA

Reinivaldo Sérgio Ferraz Júnior<sup>1,\*</sup>; Márcio Dias Rabelo<sup>1</sup>; Gilberto Batista de Souza<sup>1</sup>; Patrícia Perondi Anchão Oliveira<sup>1</sup>; Carlos E K M A de C Jordão<sup>1</sup>; Alberto C. de Campos Bernardi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: reinivaldo.ferraz@embrapa.br

**Resumo:** A volatilização de amônia ( $\text{NH}_3$ ) é a principal fonte de perda de nitrogênio (N) em solos fertilizados com ureia. Este trabalho teve como objetivo quantificar o teor de amônia volatilizada após a fertilização com ureia de dois tipos de solos, sob condições de laboratório, empregando a técnica de espectroscopia por fotoacústica (PAS). A ureia foi aplicada na superfície do solo, sem incorporação, em um Neossolo Quartzarênico (NQ) e um Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA) em doses equivalentes a 0, 50, 100 e 200 kg/ha. Os resultados indicaram que a PAS é uma técnica analítica eficiente com vantagens de executar análise direta sem uso de reagentes químicos e alta velocidade analítica, o que a qualifica para a quantificação da emissão de amônia em solos. As informações obtidas permitiram avaliar os momentos de máximas e mínimas emissões de amônia e também concluir que houve menor volatilização de amônia no LVA comparado ao NQ para todas as doses testadas.

**Palavras-chave:** fotoacústico, textura do solo, efeito estufa, ureia, volatilização de amônia.

### *PHOTOACOUSTIC SPECTROSCOPY FOR QUANTIFICATION OF AMMONIA VOLATILIZATION FROM UREA FERTILIZED SOIL*

**Abstract:** Ammonia volatilization ( $\text{NH}_3$ ) is the main source of nitrogen (N) loss in urea fertilized soils. This work aimed to quantify the volatilized ammonia content after urea fertilization of two types of soils under laboratory conditions using the technique of photoacoustic spectroscopy (PAS). Urea was applied broadcast in a Quartzipsamment (NQ) and in a Haplortox (LVA) soils at doses equivalent to 0, 50, 100 and 200 kg/ha. The results indicated that PAS is an efficient analytical technique with advantages of performing direct analyzes without chemical reagents and high analytical speed, for the quantification of soil ammonia in the laboratory environment, also providing qualitative information, which allowed to evaluate the periods of maximum and minimum ammonia emissions. There was lower ammonia volatilization in LVA compared to NQ.

**Keywords:** photoacoustic, soil texture, greenhouse effect, urea, ammonia volatilization.

#### 1. Introdução

O método da espectroscopia fotoacústica (PAS) tem sido utilizado para a avaliação conjunta dos fluxos de  $\text{CO}_2$  (dióxido de carbono),  $\text{CH}_4$  (metano),  $\text{NH}_3$  (amônia) e  $\text{N}_2\text{O}$  (óxido nitroso) em substituição à cromatografia (HASSOUNA et al., 2013; NICOLOSO et al., 2013). No entanto, esta técnica ainda tem poucos resultados publicados em estudos que avaliam as emissões de gases de efeito estufa (GEE) do solo no Brasil. Entre as principais vantagens deste método estão sua sensibilidade e linearidade para as concentrações de GEE, possibilidade de análise direta, alta frequência analítica, não geração de resíduos químicos, amostragem e medição de gás em tempo real (evitando armazenamento de amostras e análises laboratoriais) e portabilidade (NICOLOSO et al., 2013; YAMULKI; JARVIS, 1999).

Estudos que avaliaram as emissões de GEE do solo por meio do PAS foram realizados com sucesso (VELTHOF; KUIKMAN; OENEMA, 2003). Nicoloso et al. (2013) utilizaram PAS para a determinação dos fluxos de GEE do solo em comparação com a cromatografia gasosa e verificaram boa correlação e linearidade entre as medidas das concentrações de  $\text{CO}_2$  e  $\text{N}_2\text{O}$  realizadas por

fotoacústica com os resultados de cromatografia. Hassouna et al., (2013) quantificaram os gases de efeito estufa  $N_2O$ ,  $NH_3$  e  $CH_4$  para medir os possíveis efeitos de subestimação ou superestimação pela influência cruzada entre os gases.

Do ponto de vista analítico, estão disponíveis algumas metodologias para determinação de amônia em ambientes que normalmente utilizam sua fixação em meio ácido, com posterior alcalinização para destilação e nova acidificação em ambiente com indicadores ácido/base para titulação, trabalhando em bancada (HERNANDES; CAZETTA, 2001) ou no campo (ALVES et al., 2011). O princípio desses métodos foram desenvolvidos no século XIX pelo químico dinamarquês Johan Gustav Kjeldahl para determinação de nitrogênio na matéria orgânica (SÁEZ-PLAZA et al., 2013). Porém, com a evolução tecnológica, os equipamentos analíticos que trabalham com técnicas pouco difundidas como a espectroscopia fotoacústica agora podem ser testados, ao passo que oferecem a opção de medir os teores do analito na fase gasosa (HASSOUNA et al., 2013).

Nesse contexto, a ureia é um fertilizante nitrogenado bastante utilizado no Brasil devido ao baixo custo por unidade de N e ao alto teor de nitrogênio em sua composição (CANTARELLA et al., 2008). A perda de N por volatilização de  $NH_3$  para a atmosfera é um dos principais fatores responsáveis pela baixa eficiência da ureia aplicada na superfície do solo (BERNARDI et al., 2014; CANCELLIER et al., 2016; MARIANO et al., 2019).

O processo de volatilização envolve, inicialmente, a hidrólise enzimática da fonte nitrogenada por meio da urease, uma enzima produzida por bactérias e fungos presentes no solo ou oriundos de restos vegetais. Como resultado da hidrólise, tem-se a formação de carbonato de amônio ( $(NH_4)_2CO_3$ ). Esse processo é dependente do pH do meio, e em condições de alcalinidade há a volatilização de amônia. Em condições alcalinas, o carbonato de amônio resultante da hidrólise da ureia não é estável e dissocia-se nos gases  $NH_3$  e  $CO_2$  e água, podendo ocorrer a volatilização. Em condições ácidas, parte do carbonato de amônio reage com íons  $H^+$  da solução do solo e com íons  $H^+$  dissociáveis do complexo coloidal, resultando no cátion  $NH_4^+$  (ERNANI; STECKLING; BAYER, 2001; SANGOI et al., 2003). Entretanto, mesmo em solos tropicais ácidos, quando se exaurem os cátions das proximidades do grânulo de ureia para trocar e reter o amônio, ocorre a volatilização, pois, uma vez desencadeado o processo de hidrólise da ureia, há elevação do pH em torno do grânulo de ureia em níveis suficientes para provocar perdas de amônia (FENN; MIYAMOTO, 1981; FENN; RICHARDS, 1986; TISDALE, 1984; SENGIK, 1993, citados por OLIVEIRA; TRIVELIN; OLIVEIRA, 2007).

O objetivo deste trabalho foi quantificar o teor de amônia volatilizada a partir da fertilização com ureia de dois tipos de solos, empregando a técnica analítica de PAS sob condições de laboratório.

## 2. Material e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises Ambientais da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP. As amostras de solos foram coletadas nas camadas de 0-20 cm de dois solos da área experimental da Fazenda Canchim, Embrapa Pecuária Sudeste (CALDERANO FILHO et al., 1998): Neossolo Quartzarênico (NQ) e Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA), devidamente caracterizados por análises químicas, físicas e físico-químicas (Tabela 1). Os solos foram corrigidos com calcário dolomítico (30% CaO, 18% MgO e PRNT 96%) em doses suficientes para elevação da saturação por bases (V) a 70%, tendo sido incubados na umidade próxima da capacidade de campo por 30 dias.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com três repetições. Os tratamentos foram quatro doses de N equivalentes a: 0, 50, 100 e 200 kg/ha na forma de ureia (45% N) aplicadas na superfície dos solos sem incorporação.

Para a medição dos fluxos de  $NH_3$  foi usado um analisador de gás por PAS (Innova modelo 1412i, Air Tech Instruments) equipado com 12 canais independentes para tomada de amostras (Multipoint Sampler Innova 1409). Isso permitiu que para cada rodada do estudo fossem avaliadas paralelamente 12 unidades experimentais (Figura 1), aqui chamadas de reatores. Cada reator era composto por um frasco de vidro de  $0,6 \text{ dm}^3$ , equipado com uma sonda de amostragem de gases,



aos quais foram adicionados 100 g de solo umedecidos com 20 mL de água deionizada. Em cada tampa dos reatores foi deixado um pequeno orifício para equalização da pressão com o ambiente externo para assim prevenir danos aos microfones do analisador. A tomada de amostra e leitura do  $\text{NH}_3$  foi repetida a cada 30 minutos e o experimento durou 14 dias para cada tipo de solo. Para evitar contaminação cruzada de amônia entre os experimentos de doses distintas de ureia, foram realizadas 3 leituras sequenciais dos ambientes sem aplicação de ureia.

Tabela 1. Análise química, física e físico-química dos solos.

Solo	pH		MO	P	K	Ca	Mg	H+Al	Al	CTC	V	S-SO <sub>4</sub>	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Argila	Silte	Areia
	Água	CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>						%	mg dm <sup>-3</sup>						g kg <sup>-1</sup>		
LVA	5,8	5,2	18	10	1,3	22	7	25	0	55	55	9	0,32	1,5	22	6,5	0,9	354	69	577
NQ	4,9	4,3	12	4	0,6	8	2	39	2	50	21	4	0,16	0,4	8	1,1	0,2	189	84	727



Figura 1. Equipamentos e reatores utilizados no experimento para medir a volatilização de amônia em solos fertilizados com ureia.

### 3. Resultados e Discussão

Ocorreu volatilização de amônia em todas as doses de ureia (Figura 2) e em todas as repetições experimentais, exceto onde não houve aplicação de ureia. Assim, confirma-se que a volatilização de  $\text{N-NH}_3$  se deveu à aplicação do fertilizante nitrogenado. O padrão da curva de volatilização com ureia é compatível com outros artigos publicados (ALVES et al., 2011; BERNARDI et al., 2014).

O pico máximo da volatilização de amônia ocorreu 72 horas após o início do experimento para o solo LVA e após 96 horas para o NQ (Figura 2). A máxima perda de amônia por volatilização observada concentrou-se nos primeiros seis dias ou 144 horas após aplicação do fertilizante. Os resultados obtidos nestes experimentos corroboram com a literatura (BERNARDI et al., 2014; DA ROS; AITA; GIACOMINI, 2005).

Apesar de ser mais lento para atingir o pico de liberação de amônia, o solo NQ volatilizou maior quantidade de moléculas de  $\text{NH}_3$  ao longo do tempo em todas as concentrações de ureia testadas em relação ao LVA. Os teores de argila e matéria orgânica são mais concentrados em LVA do que em NQ, respectivamente 354 e 189 g kg<sup>-1</sup> e 18 e 12 g dm<sup>-3</sup> (Tabela 1). Estas diferenças justificam a maior imobilização do íon amônio pelo LVA devido às cargas elétricas mais abundantes existentes neste solo com mais argila, corroborando os resultados de Sangoi et al. (2003). Este comportamento pode ser atribuído à maior capacidade dos solos em reter íon amônio, resultado atribuído à maior CTC do LVA (Tabela 1). Sangoi et al., (2003) avaliaram a volatilização de amônia em decorrência da forma de aplicação de ureia e tipo de solo em laboratório em Nitossolo Vermelho e NQ. Resultados também estão coerentes com os experimentos de Wang; Alva, (2000) que estudaram adsorção e dessorção de amônio ( $\text{NH}_4$ )<sup>+</sup> em solos arenosos.

O teor acumulado de  $\text{N-NH}_3$  liberado está apresentado na Figura 3. Em todos os experimentos com as respectivas doses aplicadas de ureia 50, 100 e 200 kg/ha o solo NQ volatilizou mais amônia do que LVA, sendo 4,4%; 9,5% e 17,2% para NQ e 3,2%; 7,1%; 14,6% para LVA no acumulado. Esse resultado está de acordo com outros experimentos que compararam a volatilização

de amônia em solos menos argilosos como o NQ com outros mais argilosos que retiveram a volatilização da ureia (SANGOI et al., 2003).

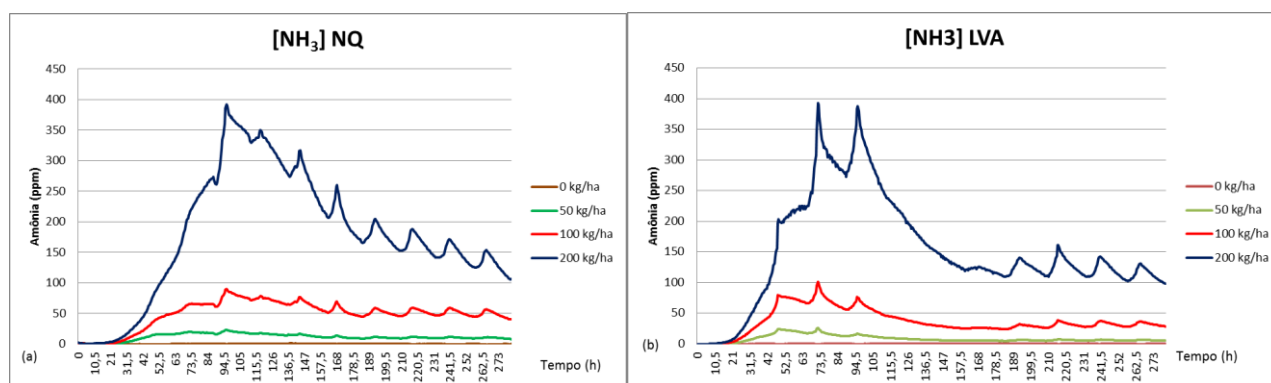


Figura 2. Concentração de amônia volatilizada após aplicação de ureia em diferentes doses ao solo em função do tempo para (a) Neossolo Quartzarênico (NQ) e (b) Latossolo Vermelho-Amarelo.

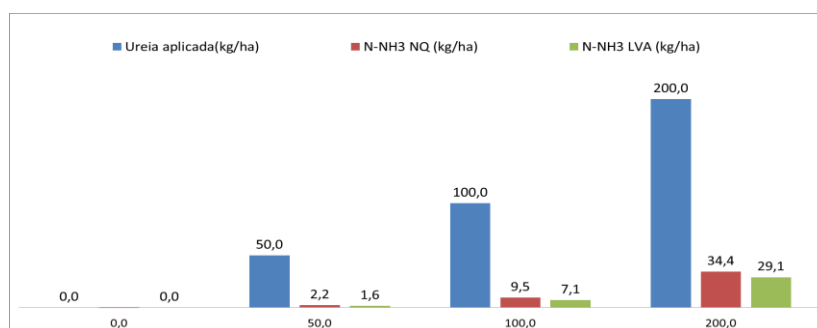


Figura 3. Médias de N-NH<sub>3</sub> volatilizados para os solos NQ e LVA nas doses 0, 50, 100 e 200 kg/ha.

Como corrobora resultados de volatilização de amônia por outras técnicas analíticas (DAROS; AITA; GIACOMINI, 2005; ERNANI; STECKLING; BAYER, 2001; NICOLOSO et al., 2013; STAFANATO et al., 2013; WANG; ALVA, 2000) a espectroscopia fotoacústica se mostrou uma técnica promissora para a quantificação de moléculas de amônia volatilizadas proveniente do solo fertilizado com ureia.

A aplicação da dose 50 kg/ha de ureia gerou perdas inferiores de N por volatilização para NQ e LVA, representando 2,2 e 1,6 kg ha<sup>-1</sup> de N-NH<sub>3</sub> (Tabela 2). Economicamente isso representa, ao custo de R\$ 150,00 por 50 kg de ureia, R\$6,66 por ha no NQ e, R\$4,81 por ha no LVA. Nas doses mais elevadas, o impacto nos custos seriam R\$14,31 e R\$10,61 por ha para a dose 100 kg/ha, e R\$25,81 e R\$21,82 para a dose 200 kg por ha. Comparando-se a volatilização do solo NQ em 200 kg/ha com LVA em 50 kg/ha a economia seria de 81,4% devido às emissões de NH<sub>3</sub> para a atmosfera.

Tabela 2. Perdas econômicas pela volatilização de N-NH<sub>3</sub> com ureia ao custo R\$ 150,00 por 50kg.

	50 kg/ha	Economia	100 kg/ha	Economia	200 kg/ha	Economia
	R\$ por ha	%	R\$ por ha	%	R\$ por ha	%
NQ	6,66	-	14,31	-	25,81	-
LVA	4,81	28	10,61	26	21,82	15

#### 4. Conclusões

Os resultados indicaram que a espectroscopia de fotoacústica é uma técnica analítica eficiente com vantagens de executar análises diretas sem uso de reagentes químicos e alta velocidade analítica, para a quantificação de amônia proveniente do solo em ambiente laboratorial, fornecendo também informações qualitativas, as quais permitiram avaliar os períodos de máximas e mínimas emissões de amônia. Houve menor volatilização de amônia para todas as doses testadas no LVA comparado ao NQ.

## Agradecimentos

Ao projeto INFRAPECUS (05.13.15.004.00.00) à Associação Rede ILPF.

## Referências

- ALVES, A. C. et al. New methods to quantify NH<sub>3</sub> volatilization from fertilized surface soil with urea. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 1, p. 133–140, 2011.
- BERNARDI, A. C. C. et al. Ammonia Volatilization from Soil, Dry-Matter Yield, and Nitrogen Levels of Italian Ryegrass. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 45, n. 2, p. 153–162, 2014.
- CALDERANO FILHO, B. et al. **Os solos da Fazenda Canchim, Centro de Pesquisa do sudeste, São Carlos, SP: Levantamento semidetalhado, propriedades e potenciais**, 1998.
- CANCELLIER, E. L. et al. Ammonia volatilization from enhanced-efficiency urea on no-till maize in brazilian cerrado with improved soil fertility. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 2, p. 133–144, 2016.
- CANTARELLA, H. et al. AMMONIA VOLATILISATION FROM UREASE.pdf. n. August, p. 397–401, 2008.
- DA ROS, C. O.; AITA, C.; GIACOMINI, S. J. Volatilização de amônia com aplicação de uréia na superfície do solo, no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 799–805, 2005.
- ERNANI, P. R.; STECKLING, C.; BAYER, C. Características químicas de solo e rendimento de massa seca de milho em função do método de aplicação de fosfatos, em dois níveis de acidez. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, n. 4, p. 939–946, 2001.
- HASSOUNA, M. et al. Infrared photoacoustic spectroscopy in animal houses: Effect of non-compensated interferences on ammonia, nitrous oxide and methane air concentrations. **Biosystems Engineering**, v. 114, n. 3, p. 318–326, 2013.
- HERNANDES, R.; CAZETTA, J. O. Método simples e acessível para determinar amônia liberada pela cama aviária. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 824–829, 2001.
- MARIANO, E. et al. Ammonia losses following surface application of enhanced-efficiency nitrogen fertilizers and urea. **Atmospheric Environment**, v. 203, n. May 2018, p. 242–251, 2019.
- NICOLOSO, R. S. et al. Gas chromatography and photoacoustic spectroscopy for the assessment of soil greenhouse gases emissions | Cromatografia gasosa e espectroscopia fotoacústica para avaliação das emissões de gases de efeito estufa do solo. **Ciencia Rural**, v. 43, n. 2, p. 262–269, 2013.
- OLIVEIRA, P. P. A.; TRIVELIN, P. C. O.; OLIVEIRA, W. S. DE. Balanço do nitrogênio ( 15 N ) da uréia nos componentes de uma pastagem de capim-marandu sob recuperação em diferentes épocas de calagem 1 Urea 15 N balance in the fractions of a Brachiaria brizantha cv . Marandu pasture un. **Revista Brasileira De Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 1982–1989, 2007.
- SÁEZ-PLAZA, P. et al. An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part I. Early History, Chemistry of the Procedure, and Titrimetric Finish. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 43, n. 4, p. 178–223, 2013.
- SANGOI, L. et al. Manejo do solo e da irriga. **Ciência Rural**, v. 33, n. 4, p. 687–692, 2003.
- STAFANATO, J. B. et al. VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA ORIUNDA DE UREIA PASTILHADA COM MICRONUTRIENTES EM AMBIENTE CONTROLADO. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 37, n. 5, p. 726–732, 2013.
- VELTHOF, G. L.; KUIKMAN, P. J.; OENEMA, O. Nitrous oxide emission from animal manures applied to soil under controlled conditions. **Biology and Fertility of Soils**, v. 37, n. 4, p. 221–230, 2003.
- WANG, F. L.; ALVA, A. K. Ammonium adsorption and desorption in sandy soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, n. 5, p. 1669–1674, 2000.
- YAMULKI, S.; JARVIS, S. C. Automated chamber technique for gaseous flux measurements: Evaluation of a photoacoustic infrared spectrometer-trace gas analyzer. **Journal of Geophysical Research Atmospheres**, v. 104, n. D5, p. 5463–5469, 1999.

**VIABILIDADE TÉCNICA DA REMOÇÃO DE INIBIDORES DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR POR PROCESSO DE LAVAGEM EM BIORREFINARIAS**A. S. S. Pinto<sup>1,\*</sup>, M. P. A. Ribeiro<sup>1</sup>, R. C. Giordano<sup>1</sup>, C. S. Farinas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, 13565-905, Caixa postal 676, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: ariane\_sbrice@hotmail.com

**Resumo:** A implementação do processo de conversão em larga escala da biomassa lignocelulósica em biocombustíveis e outros bioprodutos em biorrefinarias ainda apresenta desafios tecnológicos, especialmente aqueles relacionados ao processo de pré-tratamento, no qual inibidores das reações bioquímicas subsequentes são liberados, com destaque para os compostos fenólicos e furaldeídos. A lavagem do bagaço de cana-de-açúcar hidrotérmico pode ser utilizada como estratégia mitigadora do efeito negativo dos inibidores solúveis durante reações bioquímicas na produção de etanol de segunda geração (2G). Entretanto, ainda não há uma análise técnica das condições deste processo nesta aplicação. Neste sentido, o escopo deste trabalho foi avaliar diferentes protocolos de lavagem e seu impacto nas reações bioquímicas de conversão da celulose em bioetanol. Resultados preliminares mostraram que a lavagem sob condições brandas apresentou ganhos positivos no rendimento tanto na hidrólise enzimática quanto na fermentação. A melhora progressiva da conversão da hidrólise foi constatada a medida que houve aumento da remoção de inibidores. No entanto, condições extremas de operação, ou seja, água de lavagem ou agitação em excesso, impediram a catálise enzimática. As conclusões iniciais mostram que a avaliação técnica do processo de lavagem é crucial para o projeto do processo de lavagem na produção de etanol 2G na indústria.

**Palavras-chave:** Lavagem, Remoção de Inibidores, Compostos Fenólicos, Furaldeídos, Etanol de Segunda Geração (2G).

**TECHNICAL FEASIBILITY OF SOLUBLE INHIBITORS REMOVAL FROM THE SUGARCANE BAGASSE BY WASHING PROCESSES IN BIOREFINERIES**

**Abstract:** The implementation of large-scale conversion process of lignocellulosic biomass into biofuels and other bioproducts still presents technological challenges, especially those related to the pre-treatment process, in which inhibitors of the subsequent biochemical reactions are released, highlighting both phenolic and furaldehydes compounds. Washing the hydrothermally sugarcane bagasse could be used to mitigate the negative effect of soluble inhibitors during biochemical reactions in second generation (2G) of ethanol production. Nevertheless, an investigation of operations conditions still unclear. In this context, the scope of the present work was to evaluate different protocols of washing through their impact on conversion of cellulose to ethanol during biochemical reactions. Preliminary results elucidate that washed biomass with soft operation conditions presented positive gains in both enzymatic hydrolysis and fermentation yields. Progressive improvement of hydrolysis conversion was observed by increasing inhibitors removal during washing. However, extreme procedure conditions, in other words, high amounts of wash liquor either agitation, led to none enzyme catalysis. The initial conclusions ensure that technical evaluation of washing process is crucial for process design of washing step in 2G ethanol production for industrial sites.

**Keywords:** Washing, Inhibitors Removal, Phenolic Compounds, Furaldehydes, Ethanol of Second Generation (2G).

## 1. Introdução

Implementar o processo de conversão em larga escala da biomassa lignocelulósica em biocombustíveis e outros bioprodutos ainda apresenta desafios tecnológicos, principalmente aqueles relacionados à etapa de pré-tratamento. Nesta etapa, frequentemente, há a liberação de quantidades elevadas de inibidores das reações bioquímicas subsequentes, com destaque para os compostos fenólicos e furaldeídos. Em biorrefinarias, estratégias para mitigar e/ou bloquear o efeito negativo dos inibidores liberados na etapa de pré-tratamento do material lignocelulósico são essenciais para a minimização dos custos atrelados à reposição de enzimas utilizadas na hidrólise dos carboidratos e à baixa eficiência da fermentação na produção do bioetanol. A reconfiguração de processos a partir da implementação de técnicas de pré-tratamento, detoxificação de inibidores solúveis ou emprego de agentes atenuadores/ bloqueadores da lignina insolúvel são alguns exemplos de estratégias sugeridas para contribuir para a viabilidade das biorrefinarias com produção de primeira e segunda geração integradas (1G-2G) (Kim, 2018).

A remoção de inibidores solúveis presentes na biomassa por lavagem, por exemplo, é uma estratégia para mitigar o efeito de inibição nas enzimas e também na levedura *S. cerevisiae* durante a hidrólise enzimática e fermentação alcoólica, respectivamente. Atuar na preparação da biomassa inserindo a etapa de lavagem a quente ( $80^{\circ}\text{C} < \text{Temperatura} < 90^{\circ}\text{C}$ ) do material lignocelulósico após o pré-tratamento resultou no dobro de eficiência da sacarificação na hidrólise enzimática em estudos realizados por Kim *et al.* (2009). A mesma estratégia levou à alta solubilização de inibidores, como os fenólicos e furaldeídos, no licor da lavagem a quente da biomassa pré-tratada por explosão a vapor (Kim *et al.*, 2013). Apesar de haver diferentes opções de rotas de processo para solucionar o efeito negativo da presença de inibidores nos bioprocessos envolvidos na produção do etanol 2G (Li e Zheng; Kim, 2018), ainda não há estudos que forneçam métricas para discriminar quais rotas de processo seriam mais adequadas do ponto de vista técnico do processo de lavagem no âmbito industrial.

Neste sentido, a avaliação da viabilidade técnica de diferentes condições de operação do processo de lavagem torna-se crucial para a futura aplicação na indústria desta etapa durante a produção de etanol 2G. A fim de estabelecer a condição de operação da lavagem responsável pelo maior aumento na eficiência das reações bioquímicas durante a produção de etanol 2G, dois processos de lavagem foram comparados. O impacto nos rendimentos de hidrólise enzimática e fermentação devido à remoção da lignina solúvel da biomassa foi avaliado para condições de lavagem brandas e severas.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Processos da Produção de Etanol 2G

#### 2.1.1. Pré-tratamento e Lavagem

O bagaço de cana-de-açúcar *in natura* (Ipiranga Agroindustrial, Unidade Descalvado - SP, Brasil) foi seco até, aproximadamente, 10% de umidade ( $T \sim 30^{\circ}\text{C}$ ), moído no moinho de facas e, em seguida, peneirada, resultando em partículas com diâmetro inferior a 2 mm (peneira de 10 Mesh). O pré-tratamento hidrotérmico do bagaço foi realizado no reator de 5L da *Parr Instruments* (Modelo 4580) por 10 minutos, a  $195^{\circ}\text{C}$  e 15% de sólidos de bagaço de cana-de-açúcar seco (m:m). Ao final, a fração líquida foi separada por filtração simples.

A biomassa foi lavada em bateladas a  $90^{\circ}\text{C}$  após o processo de filtração. Condições extremas de lavagem foram consideradas no primeiro protocolo (LAV.<sup>1</sup>): cada estágio durou 10 minutos sob agitação de 10.000 rpm, totalizando 7 etapas com 3% de sólidos por etapa, garantindo a estabilização do pH do filtrado. Já para o segundo protocolo (LAV.<sup>2</sup>), consideraram-se condições de lavagem amenas: homogeneização por tempo inferior a 1 minuto, 10% sólidos em cada um dos 3 estágios de lavagem. Os experimentos foram realizados em triplicata.

#### 2.1.2. Hidrólise Enzimática

Na etapa de hidrólise foram testados a celulose comercial (Solka Floc<sup>®</sup>), o bagaço tratado

hidrotermicamente e o bagaço tratado e lavado. Triplicatas de experimentos foram conduzidas em agitador orbital por 24h a 200 rpm, 50°C, 15% sólidos (m:m) e 10 FPU de Cellic® CTec2 (Novozymes) por grama de bagaço seco no tampão citrato de sódio (50 mM, pH=5,0). A atividade do extrato enzimático comercial utilizado foi de 230 FPU/ mL (Ghose, 1987; Sluiter *et al.*, 2008).

### 2.1.3. Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica foi realizada a 34°C, 250 rpm e 10 g/L (base seca) de levedura *S. cerevisiae* em erlenmeyers com 45 mL de meio reacional (Fleischmann®, Brasil) (Sonogo *et al.*, 2014).

A performance da produção de etanol a partir das biomassas lavadas foram comparadas com a não lavada calculando-se a produtividade volumétrica (P) pela razão entre a concentração final de etanol (g/L) e o tempo total (h).

## 2.2. Caracterização da Fração Líquida

Após filtração (0,20µm), os açúcares redutores totais (ART) foram quantificados pelo método do ácido dinitrossalicílico (DNS) (Miller, 1959). A quantificação de lignina solúvel em pH ácido (LSA) baseou-se no protocolo do “National Renewable Energy Laboratory (USA)” com absorbância medida no comprimento de onda de 240 nm (Espectrofotômetro *Thermo Fisher Scientific*, modelo Genesys 10-S) e absortividade padrão ( $\epsilon$ ) igual a 25 L/(g.cm) (Sluiter *et al.*, 2008). A quantificação de glicose (GLI) e etanol (EtOH) foram realizadas por HPLC-RID (Sluiter *et al.*, 2008). Utilizou-se a coluna Rezex™ ROA-Organic Acid (H<sup>+</sup> 8%) (Phenomenex®, 300 cm x 7,8 mm) na temperatura de 60 °C com detector de índice de refração (Refractive Index Detector, RID). Fase móvel isocrática de ácido sulfúrico 5mM. O tempo de retenção considerado foi de 35 minutos. A vazão da coluna foi mantida constante em 0,6 mL/min. Após a aquisição dos dados, considerou-se o equilíbrio de 10 min. Os componentes químicos utilizados como padrões foram comprados da Sigma-Aldrich®.

## 3. Resultados e Discussão

Ambos os protocolos de lavagem foram eficientes na remoção de inibidores solúveis do bagaço hidrotérmico. A remoção dos inibidores totais, representado pela lignina solúvel (LSA), e dos açúcares redutores totais (ART) está apresentada nos balanços de massa de cada etapa de lavagem da Figura 1.

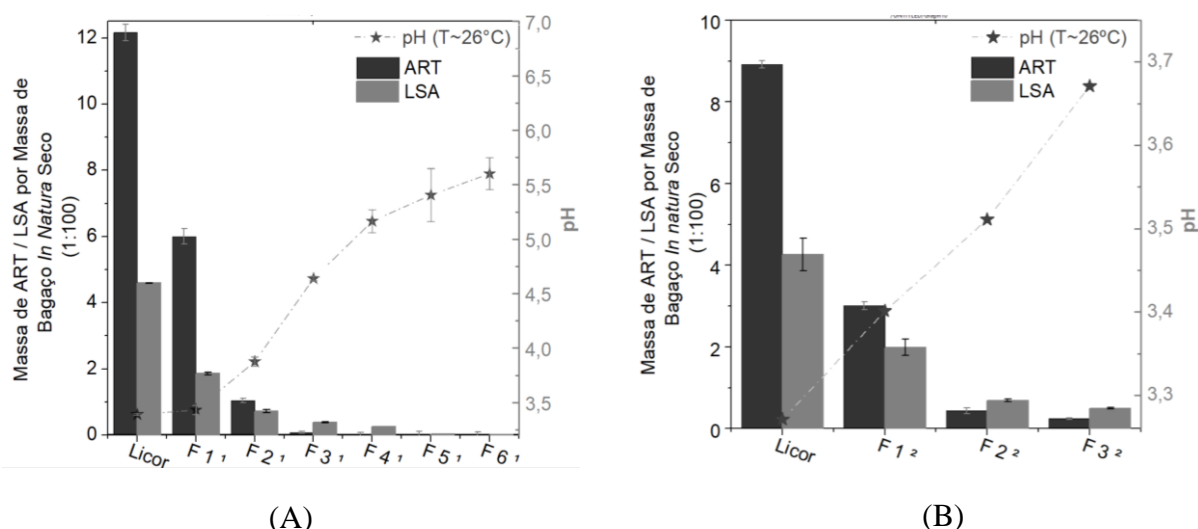


Figura 1. Composição mássica dos filtrados (F<sub>i</sub><sup>LAV.</sup> “1” ou “2”) nas etapas (i) de lavagem na abordagem 1 (A) e 2 (B)

(Base de Cálculo: g: 100 g de bagaço in natura no início do processo).

Após o processo de lavagem a biomassa foi hidrolisada por enzimas para liberação dos açúcares solúveis. Embora a LAV.<sup>1</sup> tenha removido a totalidade de inibidores ao final do sexto estágio (Figura 1 –A), este processo levou ao bloqueio da catálise enzimática mesmo em condições de hidrólise sob menor carga de sólidos e/ou maior concentração de enzimas. A causa deste efeito pode estar relacionada com mudanças na morfologia da biomassa durante a lavagem (Espírito Santo *et al.*, 2018).

Já o segundo protocolo de lavagem (LAV.<sup>2</sup>) além de remover os inibidores, impactou positivamente na hidrólise enzimática. Os perfis temporais da concentração de glicose e etanol foram aferidos para o hidrolisado advindo da lavagem do bagaço de cana-de-açúcar com máxima remoção de inibidores solúveis (LAV.<sup>2</sup> com 3 estágios). Os resultados foram apresentados na Figura 2.

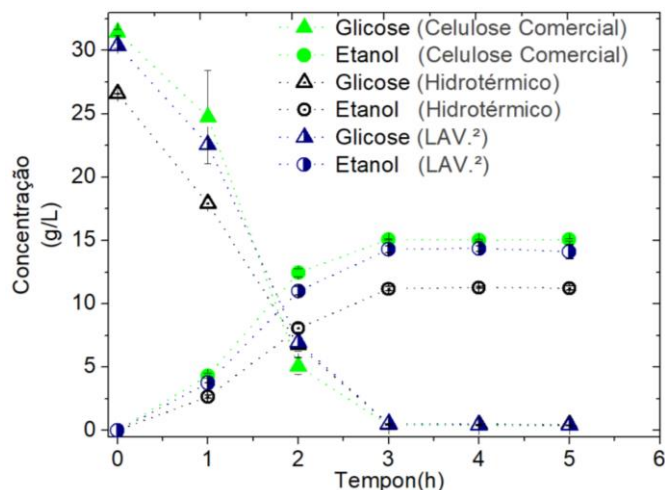


Figura 2. Perfil temporal do consumo de glicose e formação de etanol na fermentação com *S. cerevisiae* para o hidrolisado da celulose comercial, bem como do bagaço hidrotérmico lavado (LAV.<sup>2</sup> com 3 estágios) e não lavado.

Já a taxa de produção de etanol teve um aumento ainda mais significativo, chegando a ~22% ao considerar o bagaço lavado sob condições amenas (LAV.<sup>2</sup>,  $P=2,82$  g/L.h) em relação ao não lavado ( $P=2,20$  g/L.h). O aumento de 22% na produtividade foi consequência direta do ganho na conversão de hidrólise do bagaço lavado. Este efeito pode ser decisivo na viabilidade econômica da biorrefinaria integrada para produção de etanol de primeira e segunda geração (1G-2G) (Longati *et al.*, 2018). Assim sendo, o processo de lavagem da biomassa torna-se uma opção de rota factível tecnicamente com impacto positivo notável na produção do bioetanol.

#### 4. Conclusões

A otimização da produção de etanol 2G a partir das condições de operação adequadas do processo de lavagem é crucial para viabilizar a remoção eficaz de inibidores solúveis com ganho nas conversões de hidrólise enzimática e fermentação alcoólica, visto que estas podem impactar positiva ou negativamente na conversão global do processo em biorrefinarias 1G-2G.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos (PPGEQ-UFSCar), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de doutorado (processo 2017/21173-1), e também pelo apoio financeiro das agências de fomento FAPESP (processo temático 2016/10636-8, BIOEN), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES, código de financiamento 001) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processo 140906/2017-7).

**Referências**

- ESPIRITO SANTO, M. et al. Structural and compositional changes in sugarcane bagasse subjected to hydrothermal and organosolv pretreatments and their impacts on enzymatic hydrolysis. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 64-74, 2018/03/01/ 2018. ISSN 0926-6690. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669018300153> >.
- KIM, D. Physico-Chemical Conversion of Lignocellulose: Inhibitor Effects and Detoxification Strategies: A Mini Review. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 309, 2018. ISSN 1420-3049. Disponível em: < <http://www.mdpi.com/1420-3049/23/2/309> >.
- KIM, Y. et al. Fractionation of cellulase and fermentation inhibitors from steam pretreated mixed hardwood. **Bioresour Technol**, v. 135, 2013// 2013.
- LI, X.; ZHENG, Y. Lignin-enzyme interaction: Mechanism, mitigation approach, modeling, and research prospects. n. 1873-1899 (Electronic),
- LONGATI, A. A. et al. Defining research & development process targets through retro-techno-economic analysis: The sugarcane biorefinery case. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 1-9, 2018/09/01/ 2018. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852418306254> >.
- MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959/03/01 1959. ISSN 0003-2700. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/ac60147a030> >.
- SLUITER, A. et al. **Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass** National Renewable Energy Laboratory. USA. 2008



## MITIGAÇÃO DO IMPACTO NEGATIVO DE INIBIDORES NA PRODUÇÃO DE ETANOL CELULÓSICO EM BIORREFINARIAS POR PROCESSO DE LAVAGEM CONCOMITANTE COM A ADIÇÃO DE PROTEÍNA DE SOJA

A. S. S. Pinto<sup>1,\*</sup>, M. G. Brondi<sup>1</sup>, J. V. de Freitas<sup>2</sup>, M. P. A. Ribeiro<sup>1</sup>, R. C. Giordano<sup>1</sup>,  
C. S. Farinas<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, 13565-905, CP 676, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Instituto Federal de São Paulo – Campus São Carlos, Estrada Municipal Paulo Eduardo de Almeida Prado, 13565-820, São Carlos - SP, - São Carlos, SP

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP,

\* Autor correspondente, e-mail: ariane\_sbrice@hotmail.com

**Resumo:** A implementação do processo de conversão em larga escala da biomassa lignocelulósica em biocombustíveis e outros bioprodutos, em biorrefinarias, ainda apresenta desafios tecnológicos, especialmente aqueles relacionados ao processo de pré-tratamento, no qual inibidores das reações bioquímicas subsequentes são liberados, com destaque para os compostos fenólicos e furaldeídos. A lavagem do bagaço de cana-de-açúcar hidrotérmico ou adição de proteínas de sacrifício são exemplos de estratégias implementadas para mitigar o efeito negativo de inibidores solúveis e da pseudo-lignina nas reações bioquímicas envolvidas na produção de etanol de segunda geração (2G). Todavia, ainda não há uma análise técnica que contemple a configuração dos processos utilizando a lavagem concomitantemente com proteínas de sacrifício. Neste sentido, o escopo deste trabalho foi avaliar o impacto nas reações bioquímicas de conversão da celulose em glicose com esses diferentes protocolos de mitigação de inibidores solúveis e insolúveis. Os resultados mostraram que tanto a adição de proteína de soja como a lavagem apresentaram ganhos positivos paralelos no rendimento da hidrólise quando analisados separadamente. Os impactos positivos da mitigação no rendimento de glicose foram somados, chegando a ganhos de, aproximadamente, 50%, quando a lavagem do bagaço hidrotérmico foi associada à adição de proteína de soja na hidrólise enzimática.

**Palavras-chave:** Lavagem do Bagaço, Remoção de Inibidores Solúveis, Proteína de Soja, Pseudo-lignina, Etanol de Segunda Geração (2G).

### **MITIGATION OF THE NEGATIVE IMPACT OF INHIBITORS ON THE PRODUCTION OF CELLULOSIC ETHANOL IN BIORFINERIES BY WASHING PROCESS ASSOCIATED WITH THE ADDITION OF SOYBEAN PROTEIN**

**Abstract:** The implementation of the large-scale conversion process of lignocellulosic biomass into biofuels and other bioproducts still presents technological challenges, especially those related to the pre-treatment process, in which inhibitors of the subsequent biochemical reactions are released, highlighting both phenolic and furaldehydes compounds. Washing the hydrothermal sugarcane bagasse or soybean protein addition in enzymatic hydrolysis could be used to mitigate the negative effect of soluble inhibitors and insoluble pseudo-lignin during biochemical reactions in the second generation (2G) of ethanol production. However, up to now, there is none study of the technical viability of association of washing process and sacrificial protein addition in enzymatic hydrolysis. Then, the main scope of this work was to investigate different protocols of soluble inhibitors and insoluble pseudo-lignin mitigation and their impact on cellulose conversion to glucose in enzymatic hydrolysis. The glucose produced after bagasse washing was the same for the hydrothermal bagasse in buffer with protein. This means that either bagasse wash and soybean protein addition promotes parallel impact on final yields of glucose. Impressively, washing hydrothermal sugarcane bagasse associated with soybean protein addition resulted in glucose yields improvements around 50% with a supplement of both mitigation effects.

**Keywords:** Wash of Bagasse, Soluble Inhibitors Removal, Soybean Protein, Pseudo-lignin, Ethanol of Second Generation (2G).

## 1. Introdução

Implementar o processo de conversão em larga escala da biomassa lignocelulósica em biocombustíveis e outros bioprodutos ainda apresenta desafios tecnológicos, principalmente aqueles relacionados à etapa de pré-tratamento. Nesta etapa, frequentemente, há a liberação de quantidades elevadas de inibidores das reações bioquímicas subsequentes, com destaque para os compostos fenólicos e furaldeídos. Em biorrefinarias, estratégias para mitigar e/ou bloquear o efeito negativo dos inibidores liberados na etapa de pré-tratamento do material lignocelulósico são essenciais para a minimização dos custos atrelados à reposição de enzimas utilizadas na hidrólise dos carboidratos e à baixa eficiência da fermentação na produção do bioetanol. A reconfiguração de processos a partir da implementação de técnicas de pré-tratamento, detoxificação de inibidores solúveis ou emprego de agentes atenuadores/ bloqueadores da lignina insolúvel são alguns exemplos de estratégias sugeridas para contribuir para a viabilidade das biorrefinarias com produção de primeira e segunda geração integradas (1G-2G) (KIM, 2018).

A remoção de inibidores solúveis presentes na biomassa por lavagem, por exemplo, é uma estratégia para mitigar o efeito de inibição nas enzimas e também na levedura *S. cerevisiae* durante a hidrólise enzimática e fermentação alcoólica, respectivamente. Atuar na preparação da biomassa inserindo a etapa de lavagem a quente ( $80\text{ °C} < \text{Temperatura} < 90\text{ °C}$ ) do material lignocelulósico após o pré-tratamento resultou no dobro de eficiência da sacarificação na hidrólise enzimática em estudos realizados por Kim *et al.* (2009). A mesma estratégia levou à alta solubilização de inibidores, como os fenólicos e furaldeídos, no licor da lavagem a quente da biomassa pré-tratada por explosão a vapor (KIM *et al.*, 2013). Por outro lado, de acordo com a literatura, a utilização da proteína de soja resultou em ganhos na conversão da celulose durante a hidrólise de, no mínimo, 33%, quando o bagaço de cana-de-açúcar foi submetido a diferentes condições de hidrólise e de pré-tratamento (BRONDI *et al.*, 2019; FLORENCIO *et al.*, 2019). Ademais, Florencio *et al.* (2019) reportaram um ganho máximo de aproximadamente 76% quando 12% (m/m) de proteína de soja foi empregada durante a hidrólise enzimática do bagaço de cana hidrotérmico, utilizando 5 FPU/g do coquetel enzimático comercial Cellic CTec2<sup>®</sup>. Apesar de haver diferentes opções de rotas de processo para solucionar o efeito negativo da presença de inibidores nos bioprocessos envolvidos na produção do etanol 2G (KIM, 2018; LI e ZHENG, 2017), ainda não há estudos que comparem a mitigação de inibidores solúveis e insolúveis no processo de produção do etanol celulósico.

Assim, a avaliação da viabilidade técnica da aplicação da lavagem concomitante com a adição de proteínas de sacrifício torna-se crucial para a futura aplicação na indústria de produção de etanol 2G. Além do efeito sinérgico dos processos de mitigação, o impacto do processo de lavagem a quente e da adição de proteína de soja na hidrólise enzimática nos rendimentos de glicose foram comparados com solubilização do bagaço hidrotérmico sem nenhum pós-processamento.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Processos da Produção de Etanol 2G

#### 2.1.1. Pré-tratamento e Lavagem

O bagaço de cana-de-açúcar *in natura* (Ipiranga Agroindustrial, Unidade Descalvado - SP, Brasil) foi seco até, aproximadamente, 10% de umidade ( $T \sim 30\text{ °C}$ ), moído no moinho de facas e, em seguida, peneirada, resultando em partículas com diâmetro inferior a 2 mm (peneira de 10 Mesh). O pré-tratamento hidrotérmico (do inglês, *Liquid Hot Water*) do bagaço foi realizado no reator de 5L da *Parr Instruments* (Modelo 4580) por 10 minutos, a  $195\text{ °C}$  e 15% de sólidos de bagaço de cana-de-açúcar seco (m:m). Ao final, a fração líquida foi separada por filtração simples.

A biomassa hidrotérmica (LHW) foi lavada em bateladas a  $90\text{ °C}$  após o processo de filtração. Na lavagem consideraram-se a mistura da biomassa à água com homogeneização por tempo inferior a 1 minuto, 10% sólidos para 3 estágios de lavagem (PINTO *et al.*, 2019). Os experimentos de pré-tratamento e lavagem foram realizados em triplicata.

### 2.1.2. Hidrólise Enzimática e Adição de Proteína de Sacrifício

Na etapa de hidrólise foram testados a celulose comercial (Solka Flock<sup>®</sup>), o bagaço hidrotérmico e o bagaço hidrotérmico lavado. Triplicatas de experimentos foram conduzidas em agitador orbital por 48h a 200 rpm, 50°C, 15% sólidos (m/m) e 10 FPU de Cellic<sup>®</sup> CTec2 (Novozymes) por grama de bagaço seco no tampão citrato de sódio (50 mM, pH 5,0). A atividade do extrato enzimático comercial utilizado foi de 230 FPU/ mL (GHOSE, 1987; SLUITER *et al.*, 2008).

Utilizou-se a concentração de 12% de proteína de soja por grama de bagaço pré-tratado (m/m) (proteína isolada com teor proteico  $\geq 90\%$ , Bremil<sup>®</sup>, Brasil) de acordo com a metodologia descrita por (FLORENCIO *et al.*, 2019).

## 2.2 Impacto na Hidrólise Enzimática com os Processos de Mitigação de Inibidores

### 2.2.1. Quantificação de Glicose

A quantificação de glicose no hidrolisado foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de acordo com o protocolo do “National Renewable Energy Laboratory (USA)” {Sluiter, 2008, Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass ;Pinto, 2019, Viabilidade técnica da remoção de inibidores do bagaço de cana-de-açúcar por processo de lavagem em biorrefinarias.}.

### 2.2.2. Ganho no Rendimento de Hidrólise

A fim avaliar o impacto dos processos de mitigação na hidrólise enzimática, calculou-se o ganho de hidrólise. Este parâmetro refere-se ao aumento percentual do rendimento de glicose observado para cada processo de mitigação em relação ao bagaço hidrotérmico não lavado.

## 3. Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra o perfil temporal de glicose (g/L) durante a hidrólise enzimática para a produção de etanol 2G, sendo o bagaço hidrotérmico o controle dos tratamentos. Os resultados mostram que há ganhos significativos com a mitigação de inibidores solúveis e insolúveis.

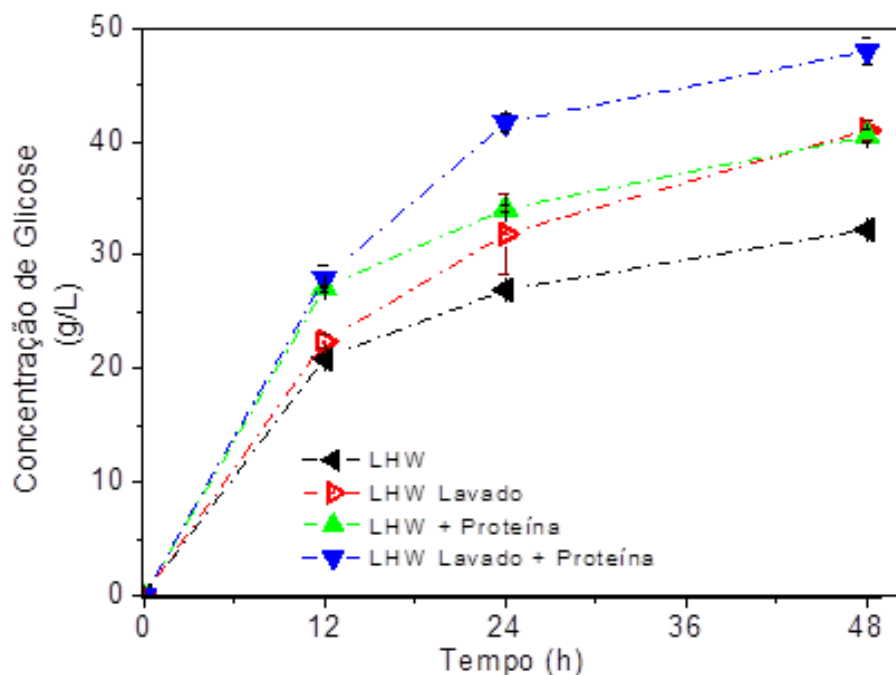


Figura 3. Perfil temporal para a concentração de glicose durante a hidrólise enzimática (15% sol., de 0h - 48h, 10 FPU/g de bagaço seco, 12% de proteína de sacrifício (massa de proteína de soja/massa de bagaço hidrotérmico seco).

O perfil temporal de concentração de glicose mostra que nas primeiras 12 h de hidrólise é notável uma tendência de aumento para o bagaço hidrotérmico com a adição da proteína comparado ao controle (34%). A concentração de glicose igual a 41,77 g/L no tempo de 24h superou aquelas obtidas somente por meio da lavagem, 31,88 g/L, ou com a adição da proteína de sacrifício, 34,10 g/L. Para tempos superiores a 24 h verifica-se que tanto o efeito da proteína de sacrifício quanto da lavagem da biomassa foram equivalentes, com ganho médio de, aproximadamente, 26% no máximo tempo de hidrólise (Figura 1). Em contrapartida, a mitigação de inibidores por lavagem concomitantemente com a proteína de sacrifício levou a ganhos de conversão na hidrólise de, aproximadamente, 50 % no tempo de 48h.

#### 4. Conclusões

Os ganhos positivos nas conversões de hidrólise pela mitigação de inibidores tanto pelo processo de lavagem quanto pela adição de proteína de sacrifício são promissores e devem ser avaliados paralelamente à análise de custos com consumo de utilidades, água e proteína de sacrifício nos processos envolvidos na biorrefinaria 1G-2G.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos (PPGEQ-UFSCar), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão das bolsas de mestrado e doutorado (processos 2017/13931-3 e 2017/21173-1, respectivamente), e também pelo apoio financeiro das agências de fomento FAPESP (processo temático 2016/10636-8, BIOEN), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES, código de financiamento 001) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processos 140906/2017-7 e 141303/2019-0).

#### Referências

- BRONDI, M. G.; VASCONCELLOS, V. M.; GIORDANO, R. C.; FARINAS, C. S. Alternative Low-Cost Additives to Improve the Saccharification of Lignocellulosic Biomass. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 461-473, 2019.
- FLORENCIO, C.; BADINO, A. C.; FARINAS, C. S. Addition of Soybean Protein Improves Saccharification and Ethanol Production from Hydrothermally Pretreated Sugarcane Bagasse. **BioEnergy Research**. 2019.
- GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. **Pure and Applied Chemistry**, 59, n. 2, p. 257-268, 1987.
- KIM, D. Physico-Chemical Conversion of Lignocellulose: Inhibitor Effects and Detoxification Strategies: A Mini Review. **Molecules**, 23, n. 2, p. 309, 2018.
- KIM, Y.; KREKE, T.; HENDRICKSON, R.; PARENTI, J. LADISH, M. Fractionation of cellulase and fermentation inhibitors from steam pretreated mixed hardwood. **Bioresour Technol**, 135, 30-38, 2013.
- LI, X.; ZHENG, Y. Lignin-enzyme interaction: Mechanism, mitigation approach, modeling, and research prospects. **Biotechnology Advances**. 35, 466-489, 2017.
- PINTO, A. S. S.; RIBEIRO, M. P. A.; GIORDANO, R. C.; FARINAS, C. S. Viabilidade técnica da remoção de inibidores do bagaço de cana-de-açúcar por processo de lavagem em biorrefinarias. **Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária**, 2019.
- SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D.. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. **National Renewable Energy Laboratory**. USA. 2008.

**APRESENTAÇÃO DO MODELO WANULCAS APLICADO EM UM SAF DE NATIVAS  
CONSORCIADO COM CANA-DE-AÇÚCAR NA EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE NA  
CIDADE DE SÃO CARLOS.**

C. C. Teodoro<sup>1,\*</sup>, E. S. Guimarães<sup>2</sup>, J. R. M. Pezzopane<sup>2</sup>, M. L. F. Nicodemo<sup>2</sup>, S. Crestana<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental, Universidade de São Paulo, Itirapina-SP, Brasil

<sup>2</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luiz, Km 234, CEP 13560-970 - Fazenda Canchim, São Carlos - SP

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos – SP

\* Autor correspondente, e-mail: [catiateodorosc@gmail.com](mailto:catiateodorosc@gmail.com)

**Resumo:** Este artigo tem como objetivo apresentar o sistema de modelagem WaNuLCAS que simula a interação entre árvore-solo-cultura no espaço e tempo, podendo utilizar três espécies de árvores e cinco espécies de culturas. A simulação foi realizada com dados da unidade Experimental da Embrapa Pecuária Sudeste na cidade de São Carlos, SP. Para o desenvolvimento do trabalho utilizou-se a espécie arbórea Canafístula em um sistema silviagrícola em consórcio com a cana-de-açúcar. Pretende-se com isto, evidenciar a capacidade de simulação do referido software, sem necessariamente verificar ou validar os resultados do ponto de vista florestal ou agrônomo. Os dados obtidos pelo modelo demonstram uma proximidade significativa aos dados reais levantados na unidade experimental.

**Palavras-chave:** iLPF; WaNuLCAS, cana-de-açúcar, nativas, *Peltophorum dubium*.

***PRESENTATION OF THE WANULCAS MODEL APPLIED IN A NATIVE WILLOW  
CONSORTED WITH SUGAR CANE IN SOUTH EAST EMBRAPA IN THE CITY OF SÃO  
CARLOS.***

This paper aims to present the WaNuLCAS modeling system that simulates the interaction between tree-soil-culture in space and time, using three tree species and five crop species. The simulation was performed with data from the Embrapa Livestock Experimental Unit in the city of São Carlos, SP. For the development of the work was used a tree species Canafistula in a sylvatic system in consortium with sugarcane. This is intended to highlight the ability of simulation of said software, without necessarily verifying or validating the results from a forest or agronomic point of view. The data obtained by the model show a proximity to the data collected in the experimental unit.

**Keywords:** ICLS; WaNuLCAS; sugar cane, natives, *Peltophorum dubium*.

**1. Introdução**

A modelagem é uma ferramenta importante para a ciência, pois possibilita através de simulações, tomada de decisões rápidas, favorecendo o planejamento de uma possível realização de experimentos e obtendo ganho de tempo e recursos (Corrêa et al., 2013a; PINTO, 2002). Os modelos auxiliam na junção de diferentes elementos da pesquisa e em suas interações genética, fisiológica e ambiental (BOOTE et al., 1995). É uma ferramenta que pode ser usada para testar ou gerar uma nova hipótese, e tem como intuito prever o comportamento de um sistema em condições desconhecidas. Os modelos não têm o potencial de gerar dados, pois dados são gerados a partir de experimentação (PEREIRA, 1984). Corrêa et al. (2013b), consideram que a modelagem tem como objetivo estabelecer diagnóstico de funcionamento de um ou mais processos, identificando suas carências científicas a serem exploradas. É possível, através da modelagem, integrar conhecimentos

interdisciplinares, facilitando a observação do objeto de pesquisa, predizendo o comportamento de integração agrícola ainda não realizado, permitindo um conhecimento da integração em diferentes escalas de tempo e espaço (CORRÊA et al., 2013). O modelo WaNuLCAS foi desenvolvido por Meine van Noordwijk, Betha Lusiana, Ni'matul Khasanah, Rachmat Mulia no ano de 1999, para realizar a interação solo-cultura-árvore, através da arquitetura acima e abaixo do solo. O modelo utiliza a plataforma Stella para suas simulações e está disponível gratuitamente no site do Icrat. A principal função do Wanulcas é avaliar o desempenho sustentável de sistemas agroflorestais. O modelo foi criado com quatro camadas de solo exploradas por raízes das culturas e árvores, e suas interações acontecem conforme a proporção de ambos os componente no espaço e tempo (NOORDWIJK M. V. et al., 2011).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Área de Estudo

A área selecionada é uma unidade experimental da Embrapa Pecuária Sudeste, sediada na cidade de São Carlos-SP com latitude de 22 ° 01 'sul e longitude de 47 ° 53' West, um sistema silvipastoril com sete espécies de nativas da região: Angico-Branco (*Anadenanthera colubrina*), Canafístula (*Peltophorum dubium*), Ipê-felpudo (*Zeyheria tuberculosa*), Jequitibá-branco (*Tariniana estrellensis*) e Pau-jacaré (*Piptadenia gonoacantha*). De acordo com a classificação de Köpen, o clima da área de estudo é subtropical Cwa-Awa, com precipitação média anual de 1440 mm e temperatura de 21,2 °C, tendo inverno seco de abril a setembro, e verão quente e úmido, de outubro a março, a umidade relativa do ar anual média é de 75,6%, com altitude de 860m. A granulometria do solo foi de areia: 699, argila: 232, silte: 69 (MARCONDELLI et al., 2018). As árvores foram plantadas em cinco faixas em aléias, o espaçamento entre as árvores foi de 2,5m x 2,5m com faixas espaçadas de 22m.

### 2.2. Descrição do modelo teórico

O modelo necessita de uma grande quantidade de dados de entrada, assim utilizou-se apenas uma espécie arbórea para rodar o modelo, a Canafístula, foi simulada a mesma condição de espaçamento descrita da área de estudo e consorciada com cana-de-açúcar entre renques em um período de 11 anos.

O WaNuLCAS versão 4.0 foi desenvolvido com o intuito de simular interações árvore-solo-cultura, acima e abaixo do solo, levando em consideração as interações envolvendo água, nutrientes e luz, com base nas densidades do comprimento da raiz da árvore e da cultura. O modelo representa um perfil de solo de quatro camadas e quatro zonas espaciais, utilizadas pelas árvores e culturas, em solos planos ou com declividade onde as interações ocorrem de diferentes formas. A simulação ocorre com a absorção de recursos, simultaneamente entre as árvores e a cultura, sempre de acordo com a demanda de cada componente e a proporção de cada um no solo. A proporção da captura de radiação é determinada pelo índice de área foliar de cada componente. A densidade radicular das árvores são as variáveis que determinam a proporção da captura de água e nutrientes (PINTO, 2002). Os diversos componentes utilizados pelo WaNuLCAS são formados por dados de clima, solo, absorção de luz, balanço de água, balanço de nitrogênio, competição por água e nutrientes, matéria orgânica, crescimento da parte aérea e erosão.

Os dados da espécie arbórea foram retirados de artigos acadêmicos e de medições realizadas na área de estudo. Os dados de solo e clima foram retirados de artigos acadêmicos da área de estudo. Os dados da lavoura da cana-de-açúcar obteve-se através do trabalho de Pinto (2002) levantados através do banco de dados da Esalq.

O calendário de plantio das árvores ocorreu no dia 1 de janeiro de 2008 e não houve corte da Canafístula nos 11 anos, o calendário da cultura ocorreu no dia 1 de março de 2008 e com corte em 19 de julho do outro ano, os anos seguintes foram simulados com plantios em 23 de julho e corte após um ano. Para os 11 anos foram realizados 2 ciclos de 4 anos e um intervalo de 1 ano para pousio, o primeiro ano dos ciclos são de cana planta e os outros três anos são compostos por cana

soca; colheu-se a lavoura próximo a 20 de julho de cada ano.

Para a simulação, o ano iniciou-se no dia zero e optou-se por não haver restrição de água e nutrientes, para tanto, os parâmetros de restrição de água e nutrientes foram posicionados no indicador zero. Foi inserido o valor de 15% para a porcentagem de declividade do solo na interface 2 do modelo na simulação. Segundo o manual, o modelo não possui boa sensibilidade para essa função.

O modelo WaNuLCAS fornece várias informações de saída, tais como: balanço hídrico e balanço de nutrientes, fósforo e nitrogênio, que podem ser representadas através de tabelas e gráficos.

### 3. Resultados e Discussão

A tabela abaixo representa a comparação entre os valores obtidos da Canafístula na unidade experimental e na simulação do modelo WaNuLCAS em um período de 11 anos.

Tabela 1. Comparação entre dados da unidade experimental e modelo WaNuLCAS

Canafístula	Dados reais	Simulação (WaNuLCAS)
Altura (H)	9,019	8,79
Altura do início da copa	4,02	-
Diâmetro da altura do Peito	11,68	31,3
Largura da copa (raio)	3,01	3,01
Altura da copa	4,99	5,33

Fonte: Elaborado pelo autor

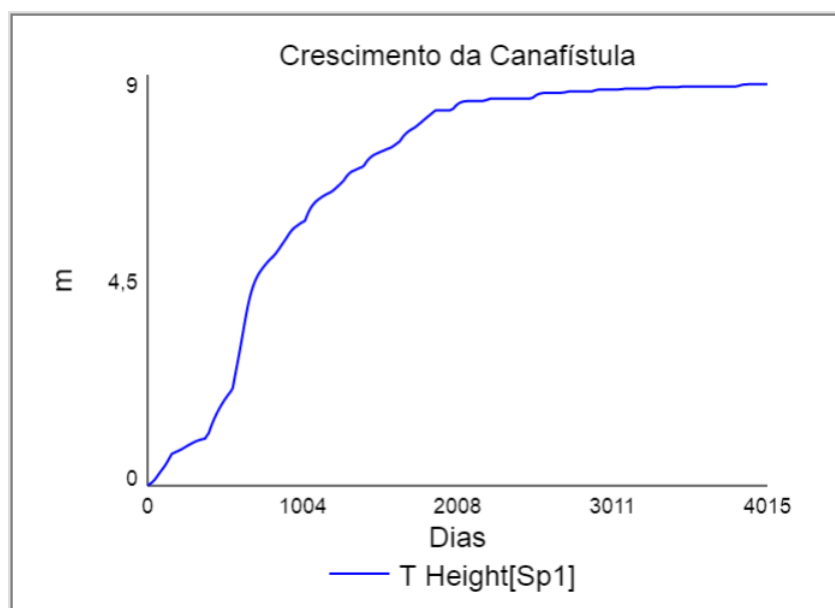


Figura 4. Gráfico de crescimento da Canafístula em um período de 11 anos no modelo WaNuLCas.

O gráfico acima demonstra o crescimento da Canafístula simulada em consórcio com a lavoura da cana-de-açúcar em um período de 11 anos, assim obteve-se o valor de 8,79 m, sendo muito próximo ao valor encontrado na área de estudo de 9,01 m. O eixo X do gráfico representa os 11 anos simulados enquanto que o eixo Y representa o crescimento constante da espécie arbórea no período.

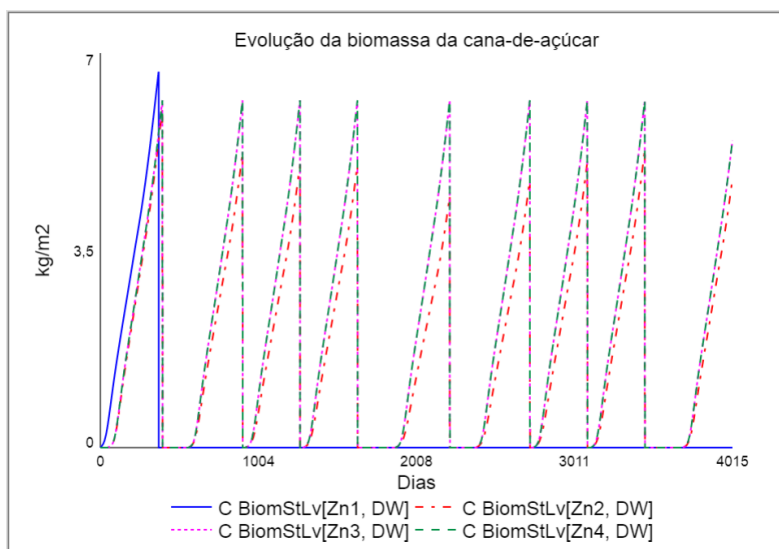


Figura 5. Gráfico de crescimento da lavoura da cana-de-açúcar em um período de 11 anos em consórcio com a espécie Canafístula no modelo WaNuLCAS.

Para o primeiro ano do ciclo o valor médio de biomassa foi de 5,85 kg/m<sup>2</sup> e para o segundo ciclo 5,69 kg/m<sup>2</sup>. Pinto (2002) simulou a cana-de-açúcar em um período de 20 anos, obtendo um valor médio da biomassa de 4,96 kg/m<sup>2</sup> e valor máximo de 6,06 kg/m<sup>2</sup> em argissolo vermelho. Resultados de Machado et al. (1982) sobre a avaliação do crescimento da cana-de-açúcar na região de Piracicaba, demonstrou um valor de biomassa de 5,3 kg/m<sup>2</sup> em latossolo vermelho amarelo. Neste trabalho, no primeiro ciclo da produção de biomassa da cana-de-açúcar na zona 1, temos o maior valor dos ciclos com 6,43 kg/m<sup>2</sup>, para os outros anos de todos os ciclos obteve-se o valor zero, possivelmente no primeiro ano a zona 1 não sofreu competição pelo tamanho das espécies arbóreas, sendo que essas ainda estavam em desenvolvimento.

#### 4. Conclusões

A área selecionada foi um sistema silvipastoril, localizado na Embrapa Pecuária Sudeste, apto para o consórcio de Canafístula e a lavoura da cana-de-açúcar, as árvores foram plantadas em aléias, que possivelmente favorece o desenvolvimento da produção de cana-de-açúcar dentro do sistema. As simulações foram realizadas utilizando o do modelo WaNuLCAS, que possibilitou avaliar o uso da cana-de-açúcar como um componente da iLPF de uma forma qualitativa. O modelo disponibiliza diversas tabelas e gráficos que podem ajudar nas experimentações de campo. O modelo não apresenta boa sensibilidade para o uso de áreas declivosas.

Diante das simulações é possível afirmar que a cana-de-açúcar pode ser utilizada como componente do sistema integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLPF) desde que seguidas as melhores práticas de manejo e fomentando o incentivo econômico para o sistema.

#### Agradecimentos

Agradeço em especial a Dra Maria Luiza Nicodemo e Dr. José Ricardo Pezzopane pela disponibilidade do estudo do SAF da Embrapa Pecuária Sudeste e pelo acolhimento nos momentos de dificuldade.

Agradeço a CAPES pela bolsa concedida.

#### Referências

- BOOTE, K.J., JONES, J.W., NIGUEL, B.P., 1995. Potential Uses and Limitations of Crop Models. *Agron. J. Abstr.* 88, 704–716.
- CORRÊA, S.T.R. et al. Aplicações e limitações da modelagem em agricultura – Revisão. *Braz. J. Agric.* 86, 1–13. 2013a.



- MACHADO, E.C., et al. Índices biométricos de duas variedades de cana-de-açúcar. Pesquisa Agropecuária Brasil. 17, 1323–1329. 1982.
- NOORDWIJK, M.V., et al. WaNuLCAS. ICRAF. 2011
- PEREIRA, A.R., Mathematical Modeling. Elsevier Science Publish. BV 31, 217–218. 1984.
- PINTO, L.F.G. Avaliação do cultivo de cana-de-açúcar em sistemas agroflorestais em Piracicaba, SP (Doutorado). Escola de Ensino Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba. 2002



## **CAPÍTULO 4**

### **Bioeconomía**



**DESENVOLVIMENTO DE ÁREA ALAGADA CONSTRUÍDA (JARDIM FILTRANTE)  
PARA TRATAMENTO DE EFLUENTE DA PRODUÇÃO AQUÍCOLA**

M. F. dos S. Brandão<sup>1,\*</sup>, W. T. L. da Silva<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luís - km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, nº 1.452, CEP: 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: maynaferraz@live.com

**Resumo:** O crescente aumento por proteína animal no Brasil, impulsionou o crescimento de práticas como a piscicultura. Esta atividade utiliza-se de uma alta gama de tecnologias para maximizar a produção, sendo que algumas destas tecnologias podem causar impactos ambientais nocivos à biodiversidade aquática. Com o objetivo de minimizar estes impactos, o presente trabalho propôs um sistema piloto para tratamento de efluente da piscicultura e reuso na própria atividade, reduzindo a quantidade de água utilizada. Os primeiros resultados deste sistema piloto, ainda sem a presença das plantas, indicam boa eficiência em filtragem reduzindo a quantidade de turbidez e de algas no efluente, mas ainda baixa remoção de sais dissolvidos na água.

**Palavras-chave:** Aquicultura em tanque escavado, Área alagada construída, Tratamento de efluente, Reuso da água.

**DEVELOPMENT OF CONSTRUCTED WETLAND (FILTERING GARDEN) FOR THE  
EFFLUENT TREATMENT IN AQUICULTURE**

**Abstract:** The growing increase in animal protein in Brazil has driven the growth of practices such as fish farming. This activity uses a high range of technologies to maximize production, and some of these technologies can cause harmful environmental impacts to aquatic biodiversity. In order to minimize these impacts, the present work proposed a pilot system for the treatment of fish farming effluent and reuse in the activity itself, reducing the amount of water used. The first results of this pilot system, even without the presence of plants, indicate good filtering efficiency reducing the amount of turbidity and algae in the effluent, but still low removal of dissolved salts in the water.

**Keywords:** Excavated tank aquaculture, Constructed wetland, Effluent treatment, Water reuse

**1. Introdução**

A demanda por proteína animal vem aumentando expressivamente no Brasil e no mundo, substituindo parte da alimentação de proteínas vegetais (SIDONIO et al., 2012), onde para suprir esta demanda, práticas como aquicultura (produção comercial de pescado) têm-se expandido.

Em decorrência da adição de insumo para a maximização da produção, a aquicultura apresenta impactos ambientais dentre elas a alteração da biodiversidade, introdução de nutrientes na água, introdução de compostos farmacológicos para tratamento de parasitas e infecções (HENRY-SILVA & CAMARGO, 2008).

Com o intuito de minimizar os problemas elencados será utilizado o sistema do tipo “Wetland”, também conhecidos como “Jardim Filtrante”, onde a água a ser tratada passa através de um leito de areia e brita, onde são plantadas macrófitas aquáticas (ZHI & JI, 2012).

Segundo Trein *et al.* (2015) os “Wetlands” construídos são sistemas concebidos e construídos para utilizar os processos naturais, que envolvem a vegetação, material filtrante e microorganismos, para auxiliar no tratamento de águas residuárias, onde a combinação de processos físicos, químicos e biológicos promovem a depuração de águas residuárias (Vymazal & Kropfelová,

2008). Este trabalho tem o objetivo de avaliar o uso da tecnologia “Jardim Filtrante” na remoção de sólidos suspensos, algas e outros contaminantes, visando tratamento e reuso da água no próprio sistema produtivo.

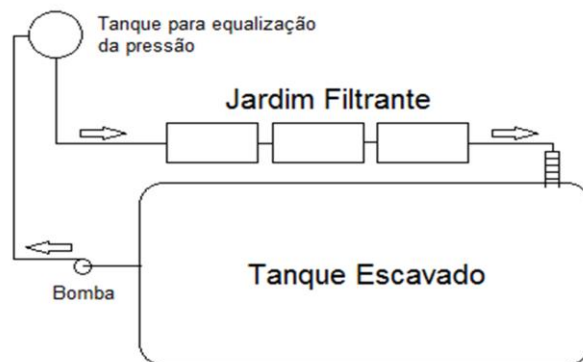
## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Descrição do sistema piloto

O sistema piloto, do tipo área alagada construída (“Wetland”) para tratamento de efluente oriundo do tanque de piscicultura foi instalado no Sítio São João, uma pequena propriedade rural familiar, localizada no município de São Carlos/SP (22°09’16.1”S 47°50’49.0”W), o qual possui um tanque escavado de volume aproximado de 600 m<sup>3</sup> (Figura 1a). A propriedade faz parte da Bacia do Ribeirão Feijão, que é o principal manancial de abastecimento do município de São Carlos (SAAE, 2019).



(a)



(b)

Figura 1. (a) Imagem de satélite da propriedade Sítio São João: A- Sistema piloto e B- tanque escavado cujo efluente será tratado (fonte: Google Maps). (b) Croqui do sistema piloto.

O sistema piloto foi idealizado com o princípio de possibilitar tratamento do efluente e reuso no próprio tanque de piscicultura, promovendo uma ciclagem da água e, conseqüentemente, reduzindo a quantidade de água utilizada.

A partir da bomba existente no tanque de piscicultura o efluente é transportado para o tanque de equalização da pressão. Por gravidade, o efluente irá para o sistema piloto composto pelas 3 caixas de madeira (2,4 m<sup>3</sup> cada, aproximadamente) preenchidas com argila expandida, onde ao final da terceira caixa o efluente passará por uma escada de aeração, retornando ao tanque de piscicultura (Figura 1b). O volume útil de cada caixa é de 0,96 m<sup>3</sup>. A coleta de amostra será realizada nos 4 pontos indicados, sendo eles: antes da caixa 1 (P1); entre as caixas 1 e 2 (P2); entre as caixas 2 e 3 (P3) e após a caixa 3 (P4), conforme mostrado na Figura 2.

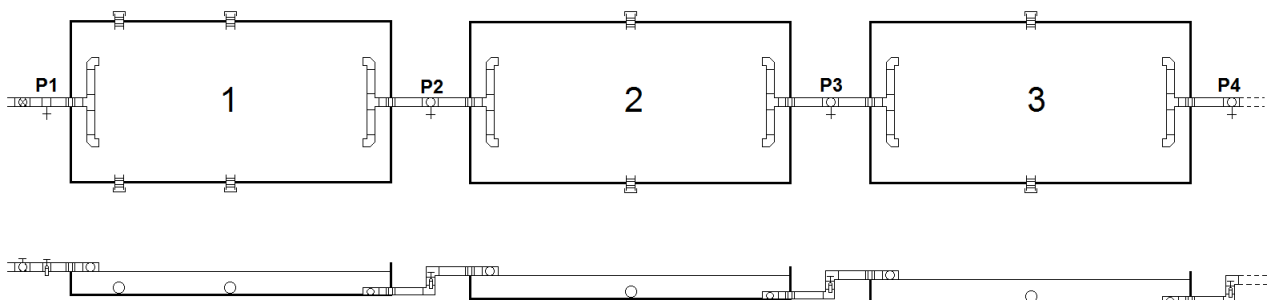


Figura 2. Disposição dos tanques sobre o solo e pontos de coletas. Na imagem, P1, P2, P3 e P4, correspondes aos pontos de amostragem P1 a P4, respectivamente.

## 2.2 Metodologia de coleta e análises

A coleta das amostras foi realizada em triplicata para cada ponto, em frascos âmbar de 1L revestidos externamente com papel alumínio e refrigerado após a coleta. Antes da coleta, as torneiras relativas a cada ponto, eram abertas por aproximadamente 30 segundos, para assegurar representatividade na coleta.

Nos laboratórios da Embrapa Instrumentação, foram realizadas as análises referentes à turbidez utilizando o Microprocessador portátil Turbidímetro (HI 93703) da marca Hanna Instruments, espectroscopia UV/VIS utilizado o Espectrofotômetro (UV-1601PC) da marca Shimadzu; condutividade elétrica utilizado o condutivímetro digital de bancada (CG2000) da marca Gehaka com constante célula  $K=1$  e solução padrão  $KCl\ 0,01\ Mol\ L^{-1}$  ( $1317\ \mu S\ cm^{-1}$ ) e pH utilizado o pHmetro de bancada (pHB-500) da marca IonLab. Para a turbidez, os frascos foram agitados antes da análise. Para as demais análises, as amostras foram deixadas em repouso para precipitação dos sólidos sedimentáveis. Todas as análises ocorreram sem a necessidade de diluição das amostras. Para análise de UV/Vis, fez-se varredura de 800 a 400 nm.

## 3. Resultados e Discussão

As amostras foram retiradas do sistema piloto após 30 dias de funcionamento do mesmo, onde a partir das análises realizadas obtivemos os dados mostrados na Tabela 1 para os parâmetros da condutividade elétrica, pH e turbidez.

Tabela 1. Dados amostrais dos parâmetros de condutividade elétrica, pH e turbidez.

Pontos amostrais	Condutividade elétrica ( $\mu S\ cm^{-1}$ )	pH	Turbidez (FTU)
P1	$35,3 \pm 0,2$	6,7	$47,7 \pm 2,1$
P2	$41,4 \pm 0,7$	6,5	$38,8 \pm 2,8$
P3	$41,5 \pm 0,3$	6,5	$22,1 \pm 4,3$
P4	$40,4 \pm 0,2$	6,5	$13,2 \pm 1,3$

No Brasil não há legislação que defina valor limite aceitável para a condutividade elétrica da água, mas de acordo com estudos de Gasparotto (2011) as amostras contaminadas por esgotos apresentam o valor para a condutividade elétrica variando entre 100 a  $10.000\ \mu S\ cm^{-1}$ . Seguindo esta afirmação, valores inferiores de condutividade podem indicar uma boa qualidade da água. As análises referentes à condutividade indicam que as amostras apresentam valores médios variando de 35,3 a  $41,5\ \mu S$ , como mostra a Tabela 1, podendo ser classificadas como efluentes com uma boa qualidade frente a este parâmetro. Para este parâmetro, os resultados mostraram que sem as plantas não foi possível a retirada de sais do efluente.

Segundo a Resolução n° 357 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) de 2005 o valor permitido para o pH de águas doces pode variar de 6,0 a 9,0 e esta variação permite a manutenção adequada para a vida aquática (GASPAROTTO, 2011). O valor médio encontrado para o pH, mostrado da Tabela 1, enquadra-se nos valores permitidos pela legislação e indica que o efluente apresenta boa qualidade em relação a este parâmetro.

Os valores de turbidez, apresentados na Tabela 1, apresentaram uma alteração expressiva nos valores variando de  $47,7 \pm 2,1$  FTU no P1 até  $13,2 \pm 1,3$  FTU no P4 sendo uma redução de 72% da turbidez. Este fato relaciona-se com a presença da argila expandida no sistema piloto, que se infere que tenha realizado o processo de filtragem e sorção das microalgas presentes no efluente da piscicultura. Vale destacar que no momento da coleta das amostras não havia sido plantado as macrófitas.

A análise do UV/Vis seguiu a metodologia utilizada por Couceiro *et. al* (2016) sendo observado o comprimento de onda de absorção da clorofila, Figura 3a. Os valores médios e desvio padrão da intensidade das bandas em cada ponto podem ser visualizados na Figura 3b.

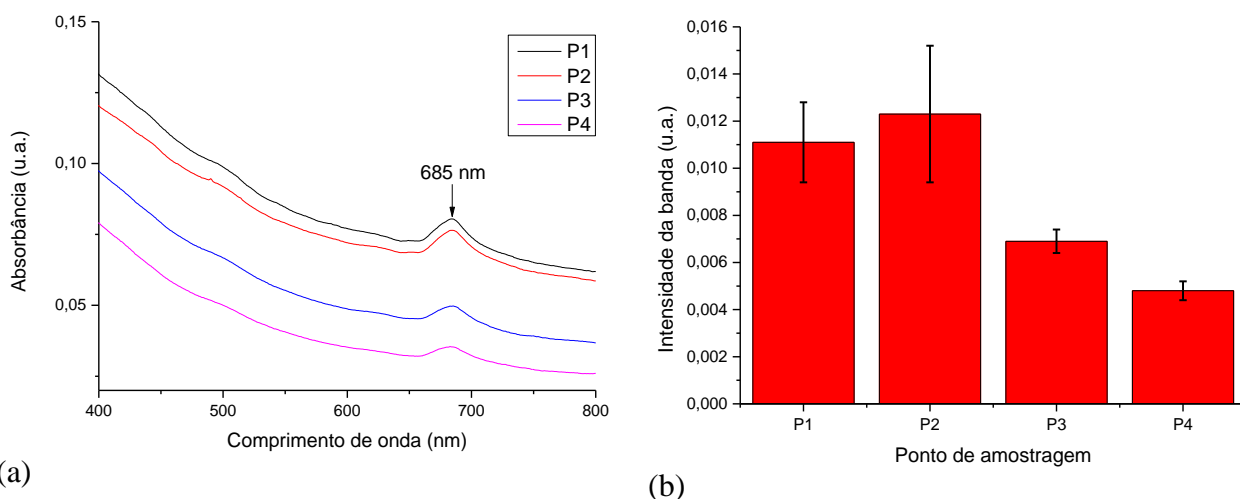


Figura 3. (a) Trecho do comprimento da onda correspondendo a faixa de absorção da clorofila e (b) intensidade da absorbância banda (685 nm) em cada ponto amostrado.

O comprimento de 685 nm corresponde a faixa de absorbância da clorofila, sendo possível visualizar que no P1, P2, P3 e P4 há presença de algas mas ocorre uma redução da absorção nos pontos respectivamente, podendo este fato ser relacionado com a redução expressiva da turbidez no P3 e P4. Os P1 e P2 não apresentam diferença significativa entre eles, fato a ser melhor investigado.

#### 4. Conclusões

Baseado nos resultados obtidos, as conclusões preliminares do presente trabalho são que há eficiência na redução de algas pela ação de filtragem da argila expandida presente no sistema, sendo esta afirmação sustentada pelos valores obtidos de turbidez em cada ponto amostrado, bem como com aproximadamente 72%, de redução da intensidade de absorbância da clorofila. Observou-se também, por outros parâmetros de qualidade da água (pH e CE) se mantém pelo sistema piloto, haja visto que não apresentaram alterações significativas. O efluente tratado, apresentou qualidade superior em comparação ao efluente bruto, entretanto, ainda se tornam necessárias outras análises de qualidade de água, bem como o efeito da futura adição de macrófitas aquáticas ao sistema.

#### Agradecimentos

Autores agradecem ao BNDES e EMBRAPA pelo financiamento do projeto (BRS-Aqua / SEG 21.17.02.001.05.02.07).

#### Referências

- CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE (CONAMA). (2005) Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 de março. p. 58-63.
- COUCEIRO, G. C.; BUSTAMANTE, Y. B.; CARVALHO, J. A.; <sup>1</sup>, TEIXEIRA, D. P.; DOS SANTOS, P. M.; JUNIOR, M. B.; SIMIONI, A. R. Extração e quantificação das clorofilas A e B nas folhas da *Xanthosoma Sagittifolium*. XX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XVI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VI Encontro de Iniciação à Docência. Vale do Paraíba, 2016.
- GASPAROTTO, F. A. Avaliação Ecotoxicológica e Microbiológica da água de nascentes urbanas no município de Piracicaba-SP. Universidade de São Paulo. Piracicaba, p. 90. 2011.
- HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M. Impacto das atividades de aquicultura e sistemas de tratamento de efluentes com macrófitas aquáticas – relato de caso. Boletim do Instituto de Pesca, v. 34, n.1, p. 163 - 173, 2008, São Paulo.
- SAAE, Serviço Autônomo de Água e Esgoto. Mananciais. Disponível em: <https://www.saaesaocarlos.com.br/saaesc/index.php/agua/mananciais>. Acesso em: jul. de 2019.



- SIDONIO, L.; CAVALCANTI, I.; CAPANEMA, L.; MORCH, R.; MAGALHÃES, G.; LIMA, J.; BURNS, V.; JÚNIOR, A. J. A.; MUNGIOLI, R. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. BNDES Setorial, n. 35, p 421-463, 2012.
- TREIN, C. M.; PELISSARI, C.; HOFFMANN, H.; PLATZER, C. J.; SEZERINO, P. H. Tratamento descentralizado de esgotos de empreendimentos comercial e residencial empregando a ecotecnologia dos wetlands construídos. Ambiente Construído, Porto Alegre, v. 15, n. 4, p. 351-367, 2015.
- VYMAZAL, J.; KROPFELOVÁ, L. Wastewater treatment in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow. Republica Tcheca: Springer, 2008.
- ZHI, W.; JI, G. Constructed wetlands, 1991 – 2011: A review of research development, current trends, and future directions. Science of the Total Environment, v. 441, p. 19– 27, 2012.

**USO DA PROTEÍNA DE SOJA NA SACARIFICAÇÃO DO BAGAÇO DE CANA-DE-  
AÇÚCAR NO CONTEXTO DE UMA BIORREFINARIA INTEGRADA: ANÁLISE  
TECNO-ECONÔMICA DO PROCESSO**

M. G. Brondi<sup>1,\*</sup>, A. M. Elias<sup>1</sup>, F. F. Furlan<sup>1</sup>, R. C. Giordano<sup>1</sup>, C. S. Farinas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, km 235, 13565-905, São Carlos, SP, Brasil

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil

\* Autor correspondente, e-mail: mariana.brondi@gmail.com

**Resumo:** A conversão bioquímica de biomassas lignocelulósicas em biocombustíveis e outros bioprodutos ainda apresenta alguns desafios tecnológicos como, por exemplo, o baixo rendimento da etapa de hidrólise enzimática e o alto custo das enzimas celulolíticas. Nesse contexto, o uso de aditivos durante a sacarificação tem apresentado efeitos positivos na redução da adsorção improdutiva de celulasas pela lignina, contribuindo, assim, para o aumento da conversão da celulose em açúcares fermentescíveis. Todavia, para se buscar a viabilidade tecno-econômica do processo, se faz necessário o uso de aditivos de baixo custo. Assim, este estudo avaliou impacto tecno-econômico do uso da proteína de soja como aditivo de baixo custo durante a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar hidrotérmico no contexto de uma biorrefinaria integrada produzindo etanol de primeira e segunda geração (1G-2G), utilizando como ferramenta a Análise Tecno-Econômica Reversa. Tal análise possibilitou a obtenção de metas de desempenho a serem atingidas experimentalmente de modo a viabilizar o uso do aditivo no contexto da biorrefinaria, sendo estas: o aumento da conversão proporcionada pela proteína durante a sacarificação e a redução da carga enzimática utilizada no processo.

**Palavras-chave:** Proteína de Soja, Bagaço de Cana-de-Açúcar, Hidrólise Enzimática, Análise Tecno-Econômica, Adsorção Improdutiva.

**USE OF SOYBEAN PROTEIN AT SUGARCANE BAGASSE SACCHARIFICATION IN THE  
CONTEXT OF AN INTEGRATED BIOREFINERY: PROCESS TECHNO-ECONOMIC  
ANALYSIS**

**Abstract:** The biochemical conversion of lignocellulosic biomass into biofuels and other bioproducts still have some technological bottlenecks, such as the low yield of the hydrolysis step and the high cost of the cellulolytic enzymes. In this context, the use of additives during the saccharification has presented positive effects on reducing the unproductive binding of cellulases onto lignin, increasing, then, the cellulose conversion into fermentable sugars. However, in order to ensure the process techno-economic feasibility, it is necessary to use low-cost additives. Thus, this study evaluated the techno-economic impact of the use of soybean protein as a low-cost additive during the enzymatic hydrolysis of hydrothermally pre-treated sugarcane bagasse in the context of an integrated biorefinery that produces first and second-generation ethanol (1G-2G), using as a tool the Reverse Techno-Economic Analysis. This analysis allowed the definition of some performance targets to be reached experimentally in order to make the use of the additive economically feasible at the biorefinery context. The obtained targets were: increase the conversion provided by the protein during the saccharification and reduce the enzyme dosage used at the process.

**Keywords:** Soybean Protein, Sugarcane Bagasse, Enzymatic Hydrolysis, Techno-Economic Analysis, Unproductive Binding.

## 1. Introdução

A bioconversão de biomassas lignocelulósicas em biocombustíveis como, por exemplo, o etanol celulósico (2G) é uma importante alternativa para reduzir a dependência e os impactos ambientais do uso de combustíveis fósseis. No entanto, de modo a viabilizar a produção do etanol 2G, alguns desafios tecnológicos, tais como o baixo rendimento da sacarificação enzimática e o alto custo das enzimas celulolíticas, ainda precisam ser superados (KLEIN-MARCUSCHAMER et al., 2012; SILVA et al., 2018). Um dos fatores que contribuem para a redução do rendimento da hidrólise é a adsorção improdutiva de celulasas pela lignina (KO et al., 2015, SAINI et al., 2016). De modo a minimizar este efeito negativo, o uso de aditivos que mitigam a adsorção improdutiva tem apresentado resultados interessantes (BRONDI et al., 2019; ROCHA-MARTÍN et al., 2017), no entanto, o uso de aditivos de baixo custo e a análise tecno-econômica da adição destes no processo de produção do etanol 2G se faz necessária de modo a se tentar viabilizar economicamente o processo.

Nesse contexto, o uso da proteína de soja como aditivo se destaca devido ao seu baixo custo (KLEIN-MARCUSCHAMER et al., 2012) e em razão dos resultados positivos já reportados na literatura, onde, por exemplo, Florencio et al. (2019) aumentaram em 76% a glicose liberada durante a hidrólise do bagaço de cana hidrotérmico utilizando o coquetel enzimático Cellic CTec2<sup>®</sup>. No entanto, é de grande importância que se avalie o impacto tecno-econômico da adição da proteína de soja durante a sacarificação enzimática para a produção do etanol celulósico.

Uma alternativa interessante para se realizar a análise tecno-econômica do processo foi desenvolvida por Furlan et al. (2016) e recentemente aplicada por Longati et al. (2018) no contexto de uma biorrefinaria integrada que produz etanol de primeira e segunda-geração (1G-2G). Denominada Análise Tecno-Econômica Reversa, ela consiste em, ao invés de avaliar a viabilidade econômica de uma condição de processo específica, especifica-se um desempenho econômico mínimo para o processo (por exemplo, Valor Presente Líquido (VPL) = 0) e então janelas de condições de operação viáveis são obtidas e podem ser utilizadas na definição de metas de desempenho a serem buscadas experimentalmente para as principais variáveis de processo (FURLAN et al., 2016; LONGATI et al., 2018).

Assim, utilizando a Análise Tecno-Econômica Reversa, este trabalho teve como objetivo avaliar o impacto da adição da proteína de soja durante a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar hidrotérmico no contexto de uma biorrefinaria integrada de etanol 1G-2G. Com esta análise, foram obtidas metas de desempenho a serem atingidas experimentalmente de modo a viabilizar economicamente o uso da proteína de soja na produção do etanol de segunda geração.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Análise Tecno-Econômica

A análise tecno-econômica da adição da proteína de soja no processo de produção do etanol de segunda geração foi realizada baseando-se na simulação da biorrefinaria integrada de etanol 1G-2G desenvolvida por Longati et al. (2018) no simulador de processos EMSO (SOARES e SECCHI, 2003). A biomassa utilizada foi o bagaço de cana-de-açúcar submetido a um pré-tratamento hidrotérmico antes da etapa de hidrólise. Informações sobre o desenvolvimento da análise, a implementação da biorrefinaria e as premissas econômicas adotadas podem ser obtidas em Furlan et al. (2016) e Longati et al. (2018). Com base nessa simulação, adicionou-se uma corrente extra de proteína de soja já a 50 °C, a qual foi misturada com a corrente de bagaço pré-tratado e enzimas na entrada do reator de hidrólise. O tempo de sacarificação foi fixado em 24 horas e após o processo, a proteína juntamente com o bagaço não hidrolisado seguiram para as caldeiras da biorrefinaria, onde houve a queima deste material e a subsequente geração de energia elétrica para a indústria.

A Análise Tecno-Econômica Reversa foi utilizada para determinar e avaliar as metas de desempenho necessárias para tornar o uso da proteína de soja no contexto da biorrefinaria economicamente viável. Para tanto, o índice econômico adotado foi o Valor Presente Líquido (VPL) do processo igual a zero, avaliando-se o efeito das variáveis carga de sólidos, carga

enzimática, conversão da celulose e concentração de proteína de soja para manter essa performance econômica adotada.

### 3. Resultados e Discussão

A Figura 1 apresenta as curvas isoeconômicas (regiões de performance econômica constante, onde o VPL do processo é zero) onde pode-se avaliar o efeito das variáveis carga enzimática, carga de sólidos e concentração de proteína de soja, na mínima conversão da celulose presente no bagaço necessária para que o processo passe a ser economicamente viável. Assim, para uma carga de bagaço de 15%, 14,4 FPU/g celulose (aproximadamente 7,5 FPU/g bagaço) e 12% de proteína de soja (PS), a sacarificação deve apresentar uma conversão mínima da celulose de 80% para que se tenha a viabilidade econômica do processo (VPL = 0), ou seja, nestas condições, conversões maiores que 80% implicam em viabilidade..

Florencio et al. (2019), realizando a hidrólise com 15% sólidos, 12% PS, durante 24 h com uma carga enzimática de 10 FPU/g bagaço e obtiveram 32% de conversão da celulose presente no material lignocelulósico. Assim, comparando os dados experimentais reportados com o que se obteve na simulação, definem-se algumas metas de desempenho a serem atingidas experimentalmente, de modo a viabilizar a produção do etanol 2G utilizando a proteína de soja como aditivo para mitigar a adsorção improdutivo de celulasas durante a etapa de sacarificação enzimática, sendo estas: o aumento da conversão da celulose em açúcares durante a hidrólise, a redução da carga enzimática e a redução do custo do aditivo para a biorrefinaria.

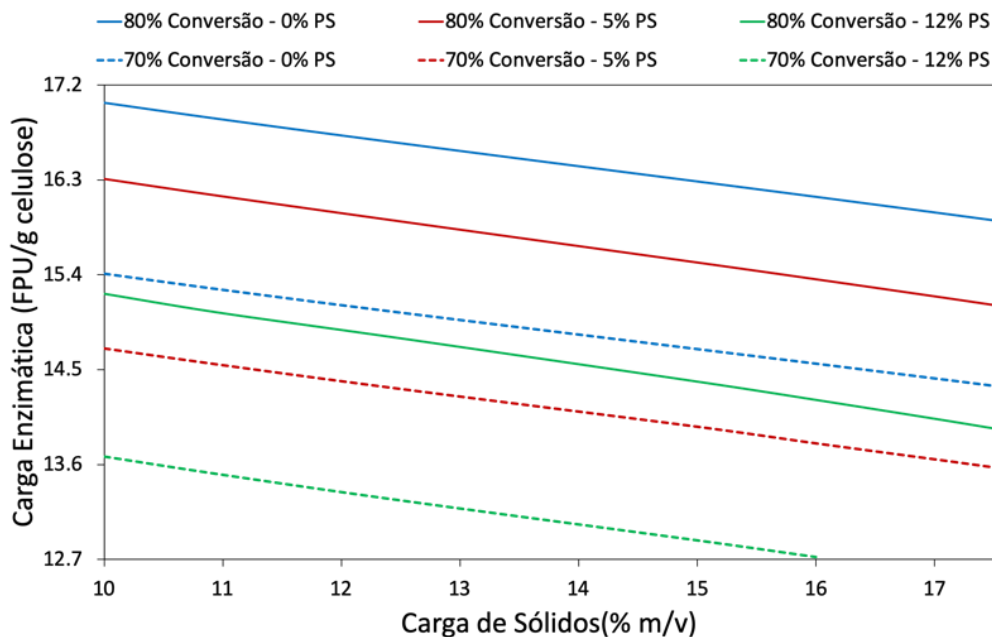


Figura 1. Curvas isoeconômicas avaliando os efeitos das variáveis carga de sólidos, carga enzimática e concentração de proteína de soja na mínima conversão necessária para que a biorrefinaria apresente Valor Presente Líquido (VPL) igual a zero. O tempo de hidrólise foi fixado em 24 horas, as concentrações de aditivo avaliadas foram 0, 5 e 12% (m/m) e as conversões foram de 70 e 80%.

### 4. Conclusões

A análise tecno-econômica da adição da proteína de soja durante a sacarificação enzimática do bagaço de cana-de-açúcar hidrotérmico no contexto de uma biorrefinaria integrada mostrou que, em relação aos dados experimentais disponíveis na literatura até o presente momento, algumas metas de desempenho são necessárias de modo a viabilizar o uso do aditivo, sendo estas: aumentar a conversão da celulose e reduzir a carga enzimática utilizada durante a hidrólise. Assim, se esses objetivos forem atingidos experimentalmente, o uso da proteína de soja poderá significar um

importante avanço no sentido de viabilizar economicamente a produção do etanol celulósico, por meio do aumento do rendimento da etapa de hidrólise que consiste em um dos gargalos tecnológicos do processo.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos (PPGEQ-UFSCar), à Embrapa Instrumentação, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de mestrado (processo 2017/13931-3) e pelo projeto temático no qual este trabalho está inserido (processo temático 2016/10636-8, BIOEN), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES, código de financiamento 001) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processo 141303/2019-0).

### Referências

- BRONDI, M.G.; VASCONCELLOS, V.M.; GIORDANO, R.C.; FARINAS, C.S. Alternative Low-Cost Additives to Improve the Saccharification of Lignocellulosic Biomass 461–473, 2019.
- FLORENCIO, C.; BADINO, A.C.; FARINAS, C.S. Addition of Soybean Protein Improves Saccharification and Ethanol Production from Hydrothermally Pretreated Sugarcane Bagasse, 2019.
- FURLAN, F.F.; COSTA, C.B.B.; SECCHI, A.R.; WOODLEY, J.M.; GIORDANO, R.C. Retro-Techno-Economic Analysis: Using (Bio)Process Systems Engineering Tools to Attain Process Target Values. *Ind. Eng. Chem. Res.* 55, 9865–9872, 2016.
- GHOSE, T.K. Measurement of cellulase activities. *Pure Appl. Chem.* 59, 257-268, 1987.
- KLEIN-MARCUSCHAMER, D.; OLESKOWICZ-POPIEL, P.; SIMMONS, B.A., BLANCH, H.W. The challenge of enzyme cost in the production of lignocellulosic biofuels. *Biotechnol. Bioeng.* 109, 1083–1087, 2012.
- KO, J.K.; XIMENES, E.; KIM, Y., LADISCH, M.R. Adsorption of enzyme onto lignins of liquid hot water pretreated hardwoods. *Biotechnol. Bioeng.* 112, 447–456, 2015.
- LONGATI, A.A.; LINO, A.R.A.; GIORDANO, R.C.; FURLAN, F.F. Defining research & development process targets through retro-techno-economic analysis: The sugarcane biorefinery case. *Bioresour. Technol.* 263, 1–9, 2018.
- ROCHA-MARTÍN, J.; MARTINEZ-BERNAL, C.; PÉREZ-COBAS, Y.; REYES-SOSA, F.M.; GARCÍA, B.D. Additives enhancing enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 244, 48–56, 2017.
- SAINI, J.K.; PATEL, A.K.; ADSUL, M.; SINGHANIA, R. R. Cellulase adsorption on lignin: A roadblock for economic hydrolysis of biomass. *Renew. Energy* 98, 29–42, 2016.
- SILVA, C.O.G.; VAZ, R.P.; FILHO, E.X.F. Bringing plant cell wall-degrading enzymes into the lignocellulosic biorefinery concept. *Biofuels, Bioprod. Biorefining*, 2018.
- SOARES, R.P.; SECCHI, A. R. EMSO: A new environment for modelling, simulation and optimization. *Comp. Aid. Chem. Eng.* 14, 947–952, 2003.

**MUDANÇA DA MORFOLOGIA DE *A. NIGER*: APLICAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ENZIMAS CELULOLÍTICAS**M. M. Buffo<sup>1,\*</sup>, A.L.Z. Ferreira<sup>1</sup>, R. M. R. G. Almeida<sup>2</sup>, A. C. Badino<sup>1</sup>, C. S. Farinas<sup>4</sup><sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luís, km 235, 13565-905, São Carlos, São Paulo<sup>2</sup> Universidade Federal de Alagoas, Av. Lourival Melo Mota, S/N, 57072-900, Maceió, Alagoas<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, nº 1.452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: marianembuffo@gmail.com

**Resumo:** Os bioprocessos industriais são realizados principalmente em culturas submersas de microrganismos que normalmente exibem um ciclo de vida morfológico complexo. A engenharia da morfologia é uma ferramenta importante para melhorar o bioprocessos, pois a morfologia influencia as condições de cultivo e está intimamente ligada à produção do produto de interesse. Este trabalho avaliou, através do delineamento experimental 2<sup>2</sup>, como a mudança no pH e na concentração de esporos do inóculo influenciou a morfologia do fungo *A.niger*. Foram obtidos inóculos com morfologias variadas, desde pellets de diferentes tamanhos até morfologia completamente dispersa. Posteriormente, três diferentes morfologias de inóculo foram utilizadas para a produção de enzimas celulolíticas em frascos agitados. As morfologias mostraram diferentes impactos nas enzimas específicas, sendo que a produção de endoglucanase foi maior na morfologia pelletizada e a produção de β-glucosidase apresentou melhores resultados na morfologia dispersa, com produção quatro vezes maior que os pellets.

**Palavras-chave:** Engenharia morfológica, enzimas, celulases, *A. niger*

***A. NIGER MORPHOLOGY CHANGE: APPLICATION IN CELLULOLYTIC ENZYME PRODUCTION***

**Abstract:** Industrial bioprocess are performed mainly in submerged culture of microorganism that normally exhibit a complex morphological life cycle. The morphology engineering is an important tool to improve the bioprocess, because the morphology influence the cultivation conditions and it is closely linked to the production of the interest product. This work evaluated, through of experimental design 2<sup>2</sup>, how the change in the pH and spore concentrate of the inoculum influenced the morphology of the fungus *A.niger*. We obtained inoculums with varied morphologies, since pellets of different sizes to completely dispersed morphology. Subsequently, three different inoculum morphologies were used for the production of cellulolytic enzymes in shaken flasks. Morphologies showed different impacts on specific enzymes, being that endoglucanase production was higher in pelletized morphology and β-glucosidase production had better results in dispersed morphology, with production four times greater than pellets.

**Keywords:** Morphology engineering, enzymes, cellulases, *A. niger*

**1. Introdução**

A economia mundial baseada em biomassa surge em resposta aos desafios globais e ambientais e tem sido cada vez mais solicitada. A UE, por exemplo, tem o objetivo ambicioso de produzir 30% de todos os produtos químicos e materiais industriais baseados em materiais renováveis e/ou bioprocessos até o ano 2030 (ZENG, 2019). Os bioprocessos são geralmente realizados por culturas submersas de microrganismos que exibem um ciclo de vida morfológico complexo, sendo classificados em pellets e micélio disperso, que inclui clumps, hifas ramificadas e isoladas (QUINTANILLA et al., 2015). As formas morfológicas influenciam as condições do

cultivo, como reologia do caldo, transferência de oxigênio, cisalhamento e também estão intimamente ligadas à produção do produto de interesse (KRULL et al., 2013). No caso de enzimas, por exemplo, uma morfologia na forma dispersa pode ser vantajosa, pois as proteínas são secretadas principalmente pelas pontas das hifas (EL-ENSHASY, 2007).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi modificar a morfologia do fungo filamentosos *A. niger* e analisar como a morfologia influenciaria na produção de enzimas celulolíticas. Para tanto, diferentes morfologias de *A. niger* foram obtidas através de delineamento experimental  $2^2$ , onde as variáveis alteradas foram concentração de esporos e pH do inóculo. Utilizando diferentes morfologias de inóculo (pellets, clumps e hifas ramificadas/isoladas), diferentes coquetéis enzimáticos de celulases foram obtidos.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Microrganismo e meio de cultura

*Aspergillus niger* selvagem, isolado da pimenta preta e obtido da coleção Embrapa Food Technology (Rio de Janeiro, Brasil). Meio de cultura utilizado foi de (MANDELS; STERNBERG, 1976) com modificações de (CUNHA et al., 2015). Lactose (14 gL<sup>-1</sup>) foi utilizada como indutor (LI et al., 2017).

### 2.2. Modificando as condições de inóculo para obter diferentes morfologias

As pré-culturas foram realizadas em Erlenmeyer de 500 mL com 100 mL de volume de trabalho. A incubação foi realizada a 32 ° C e 200 rpm por 48 h. Para obter diferentes morfologias do inóculo, foram utilizados diferentes valores de concentração de esporos e pH do meio, de acordo com o planejamento fatorial  $2^2$  (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração de esporos e condições de pH para o crescimento do inóculo.

Código	Cultivo	$C_{sp}^*$ (esporos.mL <sup>-1</sup> )	pH (-)
0	Controle (CUNHA et al., 2015)	$1 \times 10^7$	4,5
1	$C_{sp}$ (-) and pH (-)	$5 \times 10^3$	2
2	$C_{sp}$ (+) and pH (-)	$5 \times 10^7$	2
3	$C_{sp}$ (-) and pH (+)	$5 \times 10^3$	6
4	$C_{sp}$ (+) and pH (+)	$5 \times 10^7$	6
5	$C_{sp}$ (0) and pH (0)	$5 \times 10^5$	4

\* $C_{sp}$ : concentração de esporos nos 100 mL do meio.

Para analisar como as variáveis, pH e concentração de esporos, influenciaram a variável resposta, morfologia, foi proposta uma resposta quantitativa ao delineamento experimental (Y), de acordo com a Equação 1. Foi considerado para tanto o percentual de cada morfologia, o tamanho das estruturas e foi proposto um fator de classe ou peso para cada morfologia. As morfologias dispersas foram classificadas com menor peso e os pellets com maior peso. Assim, valores mais altos de Y representariam morfologias com mais pellets e menores valores de Y morfologia mais dispersa. Portanto, na Equação 1, temos: a porcentagem de cada classe morfológica na imagem do inóculo (%D: disperso, %C: clumps, e %P: pellets), os respectivos fatores de classe ou pesos atribuídos a cada classe morfológica ( $f_D = 0,1$ ,  $f_C = 0,5$  e  $f_P = 1$ ) e, quando o pellet está presente, foi considerado o diâmetro normalizado do grânulo ( $d_P / d_{Pmax}$ ).

$$Y = f_D \cdot \%D + f_C \cdot \%C + f_P \cdot \%P \cdot \frac{d_P}{d_{Pmax}} \quad (1)$$

### 2.3. Produção de enzimas

A produção de enzimas foi realizada em incubadora agitada a 32 ° C e 200 rpm por 96 h e com 10% (v.v<sup>-1</sup>) de inóculo. Os ensaios de produção foram realizados em triplicata com três tipos diferentes de inóculo (Tabela 1: códigos 0, 1 e 2). Os dados experimentais foram expressos como o valor médio  $\pm$  desvio padrão. Foram analisadas produção de endoglucanase e  $\beta$ -glucosidase, usando o protocolo de (GHOSE, 1987), utilizando carboximetilcelulose (CMC) (Sigma, EUA) e  $\beta$ -nitrofenil (Sigma, EUA), respectivamente como substratos para os ensaios.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Obtendo diferentes morfologias

Os resultados mostram como a alteração concomitante da concentração de esporos e do pH gerou uma variedade de morfologias diferentes (Figura 1), que variou desde grandes pellets (3, 5), passando por clumps (1) até morfologia predominantemente dispersa (2).

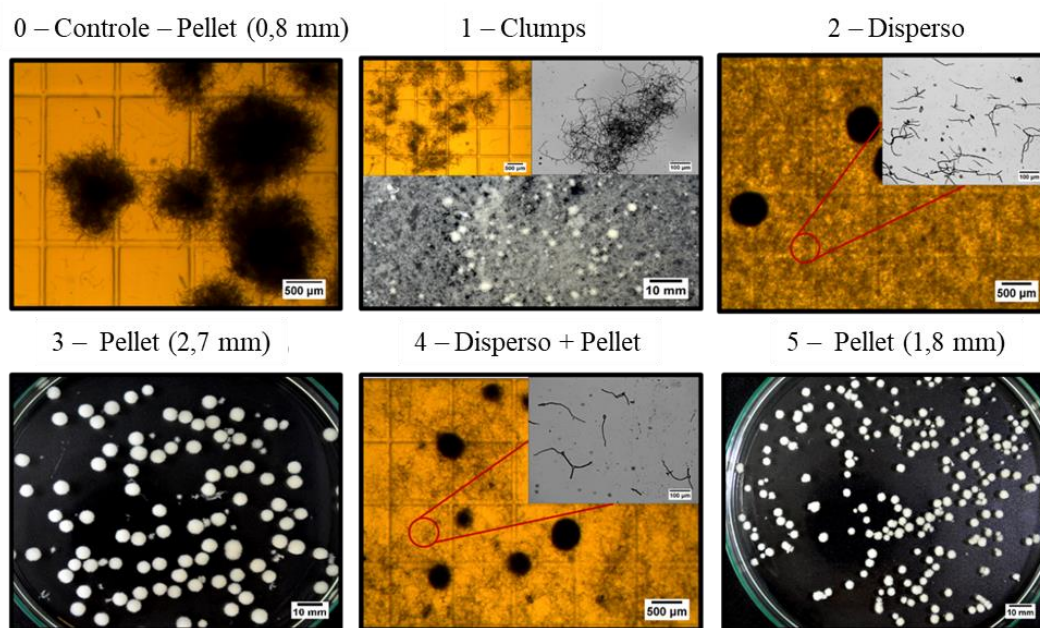


Figura 1. Morfologia do inóculo obtida nas condições de cultivo do planejamento experimental.

Com a medida quantitativa da morfologia, através do desenvolvimento da variável resposta Y foi possível a análise das variáveis, pH e concentração de esporos, através do gráfico de pareto (Figura 2). Todos os efeitos aparecem como significativos, a concentração de esporos aparece com o maior efeito, sendo esse negativo. Ou seja, foi a variável que mais influenciou a morfologia e seu aumento levou a uma diminuição na escala morfológica, o fungo tendeu a ser mais disperso. Em valores absolutos, o efeito do pH foi aproximadamente metade do efeito da concentração de esporos e o efeito foi positivo, o que significa que o aumento do pH favoreceu a morfologia peletizada. As duas variáveis juntas também tiveram um efeito significativo, o que mostra que a estratégia usada para alterar o pH e a concentração de esporos juntos foi boa para obter uma maior gama de morfologias.

Tais resultados concordam com resultados da literatura para o mesmo fungo *A.niger*. Papagianni e Matthey, (2006) avaliaram o efeito da concentração inicial de esporos no inóculo para produção de glucosamina e concluíram que, para os maiores valores de concentração inicial de esporos, houve predominância de morfologia dispersa. Em relação ao pH, GRIMM et al. (2005) estudaram a influência da agitação, aeração e pH na agregação de esporos (conídios) e constatando que a concentração de pellets aumentou e o diâmetro dos pellets diminuiu com a redução do pH, ou seja, a agregação de esporos foi menor em pHs menores.



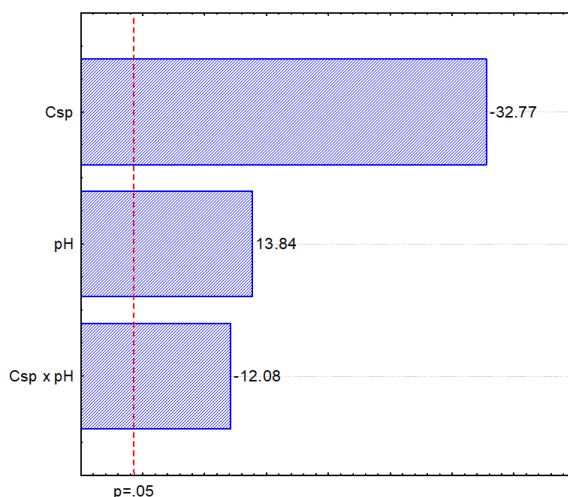


Figura 2. Análise do efeito das variáveis concentração de esporos ( $C_{sp}$ ) e pH na morfologia fúngica.

### 3.2. Produção de enzimas celulolíticas

Três diferentes morfologias foram selecionadas para produção de enzimas: Pellets (Condição 0), clumps (Condição 1) e disperso (Condição 2). A Figura 3 mostra os resultados de produção ao longo do tempo de cultivo. A morfologia peletizada teve uma atividade mais alta de endoglucanase (Figura 3A) quando comparada às formas dispersas, a atividade da endoglucanase chegou a ser aproximadamente três vezes maior. Em contraste, para a produção de  $\beta$ -glucosidase, a maior atividade ocorreu em cultura dispersa (Figura 3B), com o valor de  $\beta$ -glucosidase chegando a  $2300 \pm 120 \text{ UI.L}^{-1}$ , valor aproximadamente quatro vezes maior que a forma peletizada. Além disso, esse é um valor comparável a altos valores na literatura, (ZHAO et al., 2018) alcançaram uma produção de  $\beta$ -glucosidase de  $1930 \pm 280 \text{ UI.L}^{-1}$  usando uma cultura mista de *T.reesei* modificado e *A.niger*.

De acordo com a literatura, a morfologia dispersa é normalmente favorável à produção de enzimas devido ao fato dessas serem secretadas pelas pontas das hifas (ROBSON et al., 2008). Tal fato justifica a maior produção de  $\beta$ -glucosidase. Uma possível explicação para a menor produção de endoglucanase na morfologia dispersa é o fato do caldo gerado ter um maior índice de consistência (CERRI; BADINO, 2012), o que prejudica a transferência de oxigênio para a fase líquida, o que pode ter levado a uma menor produção dessa enzima em específico.

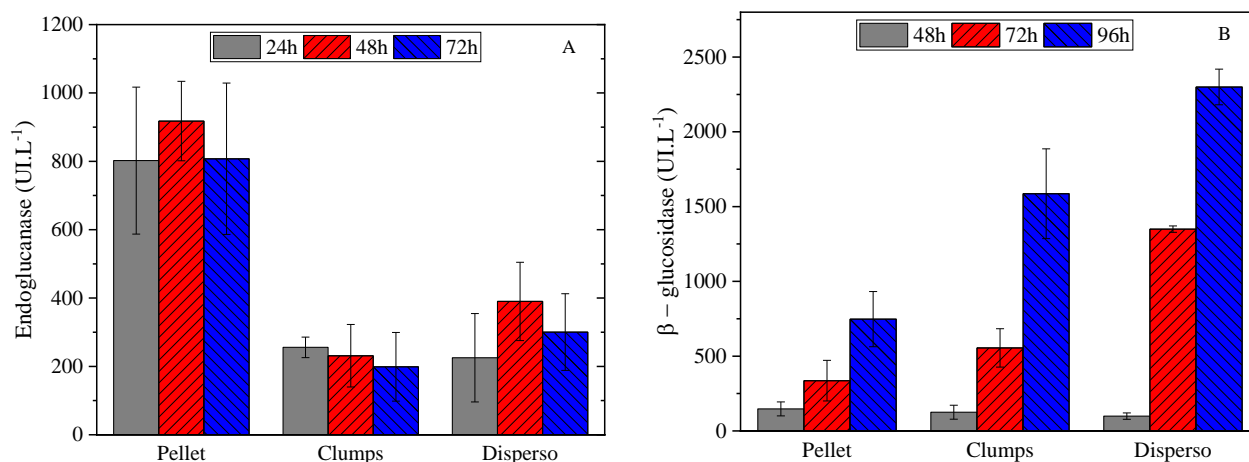


Figure 3. Atividade das enzimas ao longo do tempo. Figura 3A: Atividade de endoglucanase. Figura 3B: atividade de  $\beta$ -glucosidase.

#### 4. Conclusões

Diferentes combinações de pH e concentração de esporos geraram inóculos com morfologias variadas, desde pellets de diferentes tamanhos até inóculo completamente disperso. A produção de endoglucanase foi maior na morfologia peletizada, enquanto que na produção de  $\beta$ -glucosidase a morfologia dispersa, hifas ramificadas e isoladas, foi mais vantajosa com produção quatro vezes maior do que os pellets.

#### Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio de: CAPES (Código de Financiamento 001), Fapesp (2018/11405-5) e CNPq (208422/2017-0). Os autores também agradecem a Embrapa Instrumentação - Laboratório de Agroenergia - Brasil e a Purdue University - Laboratory of Renewable Resources Engineering (LORRE) - USA.

#### Referências

- CERRI, M. O.; BADINO, A. C. Shear conditions in clavulanic acid production by *Streptomyces clavuligerus* in stirred tank and airlift bioreactors. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35, n. 6, p. 977-984, Aug 2012.
- CUNHA, F. M.; ESPERANCA, M. N.; FLORENCIO, C.; VASCONCELLOS, V. M. *et al.* Three-phasic fermentation systems for enzyme production with sugarcane bagasse in stirred tank bioreactors: Effects of operational variables and cultivation method. *Biochemical Engineering Journal*, 97, p. 32-39, May 2015.
- EL-ENSHASY, H. A. Filamentous Fungal Cultures – Process Characteristics, Products, and Applications. *New Technologies and Applications* 2007.
- GHOSE, T. K. MEASUREMENT OF CELLULASE ACTIVITIES. *Pure and Applied Chemistry*, 59, n. 2, p. 257-268, Feb 1987.
- GRIMM, L. H.; KELLY, S.; VOLKERDING, II; KRULL, R. *et al.* Influence of mechanical stress and surface interaction on the aggregation of *Aspergillus niger* conidia. *Biotechnology and Bioengineering*, 92, n. 7, p. 879-888, Dec 2005.
- KRULL, R.; WUCHERPFENNIG, T.; ESFANDABADI, M. E.; WALISKO, R. *et al.* Characterization and control of fungal morphology for improved production performance in biotechnology. *Journal of Biotechnology*, 163, n. 2, p. 112-123, Jan 2013.
- LI, C. C.; LIN, F. M.; ZHOU, L.; QIN, L. *et al.* Cellulase hyper-production by *Trichoderma reesei* mutant SEU-7 on lactose. *Biotechnology for Biofuels*, 10, p. 15, Oct 2017.
- MANDELS, M.; STERNBERG, D. RECENT ADVANCES IN CELLULASE TECHNOLOGY. *Journal of Fermentation Technology*, 54, n. 4, p. 267-286, 1976.
- PAPAGIANNI, M.; MATTEY, M. Morphological development of *Aspergillus niger* in submerged citric acid fermentation as a function of the spore inoculum level. Application of neural network and cluster analysis for characterization of mycelial morphology. *Microbial Cell Factories*, 5, Jan 25 2006.
- QUINTANILLA, D.; HAGEMANN, T.; HANSEN, K.; GERNAEY, K. V. Fungal Morphology in Industrial Enzyme Production-Modelling and Monitoring. *In: KRULL, R. e BLEY, T. (Ed.). Filaments in Bioprocesses*. Berlin: Springer-Verlag Berlin, 2015. v. 149, p. 29-54.
- ROBSON, G. D.; PUCI, J.; THRONSET, W.; DUNN-COLEMAN, N. Oxidative stress, fragmentation and cell death during bioreactor growth of filamentous fungi. 27, p. 129-142, 2008 2008.
- ZENG, A. P. New bioproduction systems for chemicals and fuels: Needs and new development. *Biotechnology Advances*, 37, n. 4, p. 508-518, Jul-Aug 2019.
- ZHAO, C.; DENG, L.; FANG, H. Mixed culture of recombinant *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger* for cellulase production to increase the cellulose degrading capability. *Biomass & Bioenergy*, 112, p. 93-98, May 2018.

**CENÁRIO ATUAL DOS NOVOS MÉTODOS DE FENOTIPAGEM DE PLANTAS E URGÊNCIA NAS AÇÕES DE IMERSÃO DO BRASIL NA ERA DA BIOECONOMIA.**

P. S. P. Herrmann<sup>1,\*</sup>, S. Crestana<sup>1</sup>, W. Q. Ribeiro Junior<sup>2</sup>, C. A. F. de Sousa<sup>3</sup>, T. T Santos<sup>4</sup>, A. C. Lanna<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de novembro, 1452, CEP 13560-741, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Embrapa Cerrados, Rodovia BR 020 Km18, CEP 73310-970, Brasília – DF

<sup>3</sup> Embrapa Meio-Norte, Avenida Duque de Caxias, n 5650, CEP 64008-780, Teresina, Piauí

<sup>4</sup> Embrapa Informática Agropecuária, Avenida Andre Tosello 209, Campus da Unicamp, CEP 13083-886, Campinas, SP

<sup>5</sup> Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462 Km 12, CEP: 75375-000, Santo Antônio de Goiás, Goiás

\* Autor correspondente, e-mail: paulo.herrmann@embrapa.br

**Resumo:** O presente trabalho apresenta um panorama da situação atual dos novos métodos de fenotipagem de plantas no Brasil e no mundo, a partir de 2008 até 2019. Ressalta-se que o crescimento dessa área ocorreu tanto no desenvolvimento de infraestrutura por instituições de ciência e tecnologia quanto na geração do conhecimento. A ciência de plantas e ciências agrárias está no centro dos principais desafios para as sociedades globais. O melhoramento de plantas não tem mantido o ritmo do aumento de produtividade, assim sendo esforços urgentes se fazem necessários para impulsionar o setor. A Embrapa, como instituição de pesquisa na agricultura tropical, vem apresentando várias ações estratégicas nessa direção, mas um novo salto deve ser dado, com a criação de uma política de Estado, que possibilite o estabelecimento de infraestrutura adequada para o treinamento de RH altamente qualificado e a logística para um País de dimensões continentais. A multidisciplinaridade advinda de expertises em planta, geociência, ciência da computação, da agricultura de precisão, e digital e instrumentação são condições *sine qua non* para essa nova abordagem.

**Palavras-chave:** novos métodos de fenotipagem de plantas, bioeconomia, melhoramento de plantas, política de estado, meio-ambiente.

***CURRENT SCENARIO OF NEW PLANT PHENOTYPING AND URGENCY METHODS IN BRAZIL'S IMMERSION ACTIONS IN THE BIOECONOMY AGE.***

**Abstract:** This paper presents an overview of the current situation of the new plant phenotyping methods from 2008 to 2019. It is noteworthy that exponential growth occurs both in the establishment of infrastructure by institutions (ICTs) in several countries, already in 2008 there were 06 (ICTs) and in 2019 the 38 new research and development institutions and 06 from the private sector, as well as the creation of national and international networks, as for the generation of knowledge, in this period, there is the h factor of 81 (publication / citation). Plant science and agricultural sciences are at the center of the main challenges of global societies (environment and genotype interaction). Plant breeding did not keep up with the productivity increase; therefore, urgent efforts are needed to reduce this factor. Embrapa, as a leading institution in tropical agriculture, has been presenting several strategic actions in this direction, but a new leap must be taken, with the creation of a state policy that allows the establishment of adequate infrastructure, as well as for the highly trainee qualified human resources training and logistic. Plant multidisciplinary, geoscience, computer science, precision agriculture, and expertise in digital and instrumentation is a prerequisite for this new approach.

**Keywords:** new methods of plant phenotyping, bioeconomy, plant breeding, state policy, environment.

## 1. Introdução

Garantir a segurança alimentar para nove bilhões de pessoas a partir de 2050 exigirá mudanças substanciais na sociedade, especialmente no modo de produzir alimentos. O aumento populacional e o aumento da demanda por produtos biogerados e biocombustíveis exigirão um aumento de 50 a 100% de produção nas principais culturas alimentares e não alimentares. Este é um desafio enorme, considerando o impacto esperado das mudanças climáticas e a crescente escassez de recursos agrícolas (ROY et al., 2017).

Um estudo de 2015 sobre a inserção da bioeconomia na Europa concluiu que as indústrias baseadas na biologia geram 17 milhões de empregos, ou seja, 8,5% da força de trabalho da região, que rende mais de € 2 trilhões (US\$ 2,2 trilhões) anualmente. As indústrias dos EUA que produzem produtos de base biológica geram cerca de 4 milhões de empregos e movimentam US\$ 370 bilhões. A bioeconomia da Índia ultrapassou US\$ 4 bilhões em 2013. Somente a indústria brasileira de cana-de-açúcar representou 2% de seu produto interno bruto e 4,5 milhões de empregos em 2012 (EL-CHICHAKLI, et al., 2016).

O Brasil detém 25% da biodiversidade mundial, sendo uma fonte potencial para a bioeconomia, com a geração de novos materiais genéticos recombinantes, podendo atender à demanda crescente da sociedade por novos produtos na agricultura, na medicina, na indústria e na produção de energia. Segundo um estudo da Keygene, empresa localizada em Wageningen, Holanda, o mercado global de sementes movimentou algo em torno de US\$ 37,5 bilhões em 2012 (VAN TUNEN, 2016). Em 2018 esse valor subiu para algo em torno de US\$ 85,2 bilhões. A América Latina deverá ocupar o segundo lugar na taxa de crescimento anual desse mercado (Seeds Market, 2013). Nesse levantamento a Keygene demonstrou que o intervalo de tempo entre o início da pesquisa e o lançamento de uma cultivar, que no melhoramento clássico leva em torno de 10 anos, pode ser reduzido para 5,5 anos pelo uso de técnicas avançadas de genotipagem e fenotipagem (VAN TUNEN, 2016). O objetivo deste trabalho é proporcionar uma visão panorâmica da fenotipagem de plantas em todo o mundo e como as ferramentas disponíveis podem ser usadas pelo Brasil para alavancar a ciência de plantas, os programas de melhoramento genético e biotecnologia das principais culturas agrícolas.

## 2. Materiais e Métodos

A Embrapa visualizando a potencialidade de P, D & I nos novos métodos aplicados à fenotipagem de plantas (NMFP) criou o Labex Europa, posto avançado Alemanha, iniciando as atividades em outubro de 2012 até outubro de 2015. Realizou-se inicialmente um levantamento para a identificação de instalações dedicadas à fenotipagens de plantas no Brasil e em diversos países ao redor do mundo. Esses dados foram posteriormente checados por visitas in loco na Alemanha, França, Inglaterra, Holanda, Índia, Austrália, Argentina, Chile e também, por meio dos relatórios gerados pelas próprias instituições, bem como documentos da “International Plant Phenotyping Network (IPPN)”. O foco foi principalmente a evolução no número e na diversidade de “facilities”, além de instituições e países envolvidos com os novos métodos de fenotipagem de plantas. Realizou-se, também, uma extensa pesquisa nas bases de dados nacionais e internacionais para o levantamento de publicações que tenham como palavra-chave “plant phenotyping”.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Cenário Internacional e Científico da Fenotipagem de Plantas de Alto Desempenho.

Na figura 1 (A) e (B) é apresentada a evolução referente a relação do número de institutos de ciência e tecnologia, bem como a formação de redes nacionais e internacionais de pesquisas com os novos métodos de fenotipagem de plantas (NMFP). A Austrália foi pioneira nos NMFPs, inaugurando em 2007 “Australian Plant Phenomics Facility (APPF)”. A partir daí, vários trabalhos vêm sendo realizados. O exemplo de maior sucesso foi o trigo geneticamente modificado, o qual apresentou ganhos de rendimento entre 20 a 30% (BRADIOTTI, 2019).

De acordo com a Rede Internacional de Fenotipagem de Plantas (IPPN), em 2019 o número

de sócios era de 32 instituições da academia, 06 empresas da Indústria e 06 “clusters” de diversos países (PIERUSCHKA, 2019). A Embrapa se associou ao IPPN em 2018. Em 2013, a Alemanha inaugurou a Rede Alemã de Fenotipagem de Plantas (DPPN), com recursos da ordem de 35 milhões de Euros. A França e o Reino Unido também fizeram o mesmo, isto é, criaram as suas próprias redes. A comunidade Européia, por intermédio da sua agência denominada “European Strategy Forum for Research Infrastructures (ESFRI)”, listou em seu “roadmap” de 2016 o papel estratégico da fenotipagem de plantas na Europa, assegurando para os próximos 20 anos recursos da ordem de 77 milhões de euro (WOMERSLEY, 2016). Em 2016, os Estados Unidos criaram a sua rede de fenotipagem de plantas (NAPPN), juntamente com México e Canadá, que criou o “Plant Phenotyping and Imaging Research Centre (PIRC)”, com investimento da ordem de US\$ 28,5 milhões. Somente nos Estados Unidos, atualmente, a rede possui 15 “facilities”, em 10 universidades, sendo que 03 delas estão instalados sistemas de grande porte e no “Agricultural Research Service (USDA/ARS)” junto ao “U.S. Vegetable Laboratory”. A China já está investindo desde novembro de 2017 em torno de US\$ 15 milhões na organização e na estruturação da sua rede nacional de fenotípica de plantas. A Índia adquiriu em 2013 um sistema a laser de médio – grande porte para realizar a reconstrução de imagem 3D de plantas no campo. Nesse ano, de 2019, foi instalada, naquele país, para experimentos de laboratório, uma plataforma de alto desempenho de fenotipagem de plantas totalmente automatizada para análise 600 plantas, por intermédio de vários sensores.

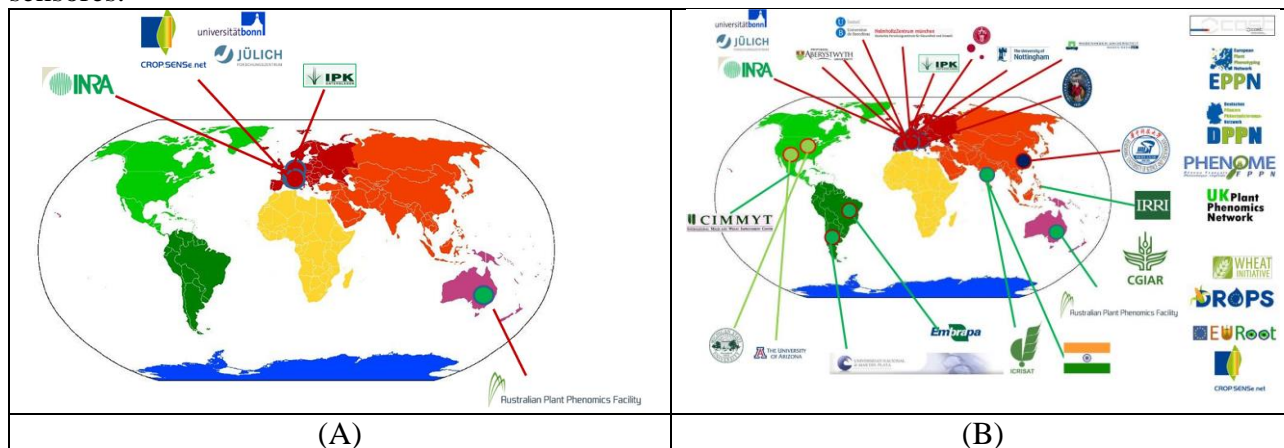


Figura 1. Mapa global da evolução e distribuição das redes nacionais e internacionais de fenotipagem de plantas por países e instituições em 2008 (A) e 2015 (B) (PIERUSCHKA, 2019)

Em 2019, observam-se ações concretas que foram realizadas em Países, como a África do Sul e Taiwan que já adquiriram sistemas de alto desempenho de fenotipagem de plantas no campo. Algumas ações pontuais relacionadas a fenotipagem de plantas de alto desempenho, no nível de laboratório, estão ocorrendo na Coreia do Sul, no “Convergence Research Center for Smart Farm Solution”. O Iran em maio de 2018 realizou uma oficina com especialistas ligados ao IPPN para discutir a aplicação de fenotipagem de alto desempenho naquele País.

O desenvolvimento das plataformas e das novas técnicas e métodos de genotipagem cresceram muito rápidos. Da mesma forma observa-se que os custos da fenotipagem por planta vêm caindo sensivelmente à medida que novos sistemas estão sendo instalados em vários países. Cálculos recentes mostraram que a aplicação dos novos métodos de fenotipagem de alto desempenho custava em torno de US\$ 5.300,00 e em 2015 girava em torno de US\$ 590,00 a US\$ 1.200,00 por planta. Por intermédio de modelos matemáticos, dos avanços em instrumentação e mecatrônica que esse custo pode cair abaixo de US\$ 120,00/planta em 2019. Para se ter uma ideia da importância disso, basta observar que em 2005 havia uma única plataforma de fenotipagem de plantas instalada no mundo. Em 2015, saltou para 31 sistemas instalados e 13 em processo de instalação. (SCWARTZ, 2016).

Do ponto de vista técnico-científico, verifica-se que o número de publicações, dos últimos

26 anos (1991 até 2017), cresceu exponencialmente, saindo de 01 publicação em 1991 alcançando, em 2017, 337 publicações. A figura 2 apresenta graficamente essa evolução temporal, tanto do número de publicações como de citações. Em termos de citações, tem-se que no ano de 1996 ocorreram apenas 02 citações, enquanto em 2017 chegou acumuladamente à marca de 6896 citações, o que confere um fator-h da ordem de 81.

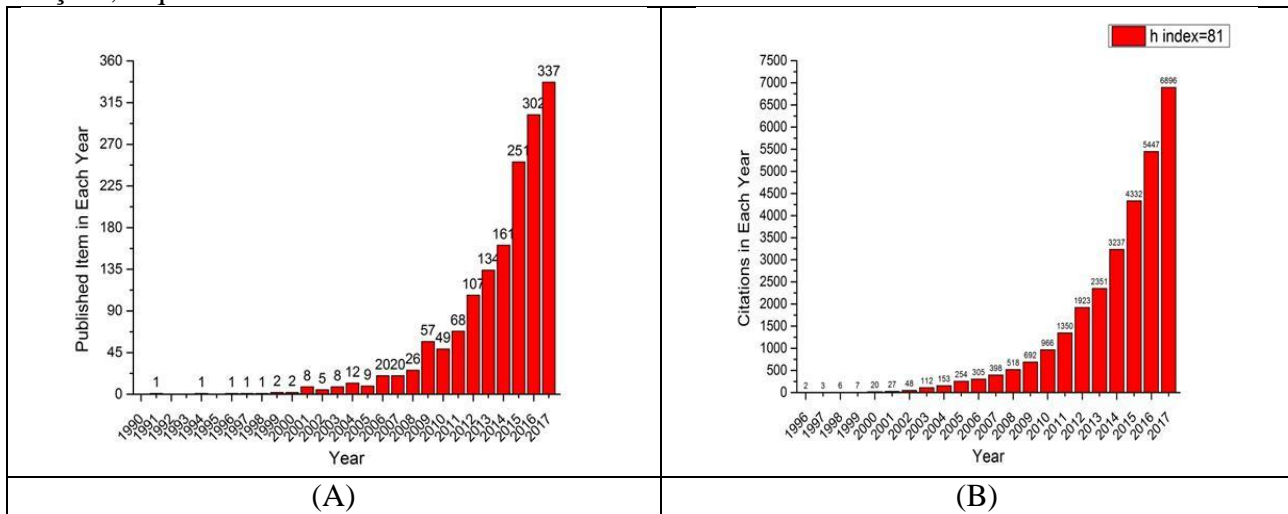


Figura 2. Gráfico com o resultado da busca de número de (A) publicações e (B) citações, no tempo, da palavra-chave “Plant Phenotyping” em tópicos. A ferramenta utilizada para a busca foi o “Web of Science” da Thomas Reuters.

Algumas ações já realizadas desde 2004 pela Embrapa e parceiros são: - Participação no programa do CIMMYT, México, denominado “Drought Phenotyping Network (Generation Challenge Program), 2004 - 2008; - Estabelecimento da plataforma SITIS de fenotipagem da Embrapa Arroz e Feijão; - Entre Outubro de 2012 a Outubro de 2015 a Embrapa criou o Labex Europa, posto avançado Alemanha, com o tema em novos métodos de Fenotipagem de Plantas; - Agropensa (“Think Tank” da Embrapa): Apresentou no documento “O Futuro de Desenvolvimento Tecnológico da Agricultura Brasileira – Visão 2014 – 2034”, onde privilegiou o tema em novos métodos de fenotipagem de plantas; - Programa de Pos-Graduação e Cientista Visitante da Embrapa em 2014. Foram dois pesquisadores (CPAC e UnB) ao Forschungszentrum Jülich, Jülich, na Alemanha; - “Workshop Phenotyping for the Future” Embrapa Sede, Brasília-DF, 17/09/2013;- “Embrapa Plant Phenotyping Workshop (Past, Present and Future)”, Embrapa Sede, Brasília-DF, 02 a 04/09/2014; - Foi criada em dezembro de 2014 o grupo de pesquisa do CNPq “Rede Brasileira de Fenotipagem de Plantas”, (<http://dgp.cnpq.br/dgp/espelhogrupo/7628749066451461>); - Aprovação do Arranjo “Métodos e técnicas modernas visando a fenotipagem de plantas para o avanço da agricultura” (FPAGro)”, em Junho de 2017; - Realização da “II Latin-American Conference on Plant Phenotyping and Phenomics for Plant Breeding” 20 a 23 de Setembro de 2017, na Embrapa Instrumentação - Em 2018, houve a transformação do arranjo em portfólio “Métodos e Técnicas Modernas, visando a Fenotipagem de Plantas para o Avanço da Agricultura (FPAGro)”- Membro associado da “International Plant Phenotyping Network (IPPN)”, com sede na Alemanha. - O tema foi contemplado no capítulo “Tecnologia e Inovação no Agro”, do livro “Agro e Paz – Análises e propostas para o Brasil alimentar o mundo”, 2018 (RODRIGUES, 2018); - Em fevereiro de 2019, o FPAGro se associou ao recém-criado CGPort Automação, Agricultura de Precisão e Digital.

#### 4. Conclusões

A área de fenotipagem de plantas tem crescido aceleradamente em todo o mundo, haja vista a quantidade de “facilities” instaladas em vários países ao redor do mundo em curto espaço de tempo e, também, a quantidades de redes nacionais de fenotipagem de plantas, as quais estão associadas à rede internacional. Assim sendo a interação entre pesquisadores e profissionais no uso

de plantas, geociências, ciência da computação e instrumentação, física e a engenharia eletrônica é fundamental.

Devido às condições continentais do País, a diversidade de seus biomas, a pujança da agricultura, o enfoque na sustentabilidade ambiental, a política nacional de bioeconomia, à complexidade inerente aos NMFPs, os problemas e as oportunidades abordados nessa temática façam que se estabeleçam condições adequadas para que os atores envolvidos na área, tanto da pesquisa pública e privada brasileira, invistam na formação de recursos humanos e recursos financeiros para infraestrutura, e desta forma possam manter o País no caminho do avanço científico e tecnológico, em particular em relação aos parceiros europeus, australianos, norte-americanos, chineses, indianos, de um lado, e com as principais empresas de sementes, por outro. Para isso devem-se estabelecer ações de imersão urgente do Brasil, na utilização dos NMFPs, em prol da geração do conhecimento dos “traits” das diversas culturas de importância agrícola, os quais sofrem influência dos fatores bióticos e abióticos do meio-ambiente em complexa mutação, em particular a zona tropical do planeta. Os resultados adquiridos possibilitaram o estabelecimento da aquisição e a formação de um banco de dados, e desta forma criar as condições adequadas para uso do “big-data” e o seu gerenciamento, da inteligência artificial aplicada a fenômica e genômica, do aprendizado de máquina, levando em conta as especificidades e influência dos diversos biomas do País, objetivando condições para o aumento do conhecimento e da produtividade da agricultura, em um curto período de tempo, juntamente com as ferramentas da genotipagem. Assim sendo uma bioeconomia pujante, advindo do agronegócio e com sustentabilidade, é o almejado.

Uma abordagem estratégica viabilizará a elaboração de estudos técnicos, de simulações, bem como as análises de impacto horizontal e vertical. A sua elaboração resultará em metas de curto, médio e longo prazo, contemplando ações regionais e nacionais, estabelecendo orçamentos para um longo período.

Devemos responder operacionalmente as perguntas que já estão sendo feitas e não estacionarmos somente no levantamento de cenários.

### Agradecimentos

Projeto "Agricultura de Precisão (AP) para sustentabilidade do sistema produtivo agrícola, pecuário e florestal brasileiro", atividade número 01.14.09.001.04.04.004 e Portfólio Automação e Agricultura de Precisão e Digital.

### Referências

- BRAIDOTTI, G. 'Over expression' of three wheat genes linked to yield gains. Fonte: Groundcover (GRDC) de 1/07/2019: <https://groundcover.grdc.com.au/story/6244809/new-genetic-pathways-to-increase-wheat-yield/?cs=13984>. (Acessado em 17 de Setembro de 2019)
- EL-CHICHAKLI, B., VON BRAUN, J., LANG, C., BARBEN, D., & PHILIP, J.. Five cornerstones of a global bioeconomy. *Nature*, v. 535, n. 7611, p. 221-223, 14 de July de 2016.
- FIORANI, F.; SCHURR, U. Future Scenarios for Plant Phenotyping, *Annual Review of Plant Biology*, v. 64, n. 1, p. 267-291, 2013;
- HERRMANN, P. S. P.; SCHURR, U. In: Humboldt Kolleg 2013 / SCIENCES & TECHNOLOGY IN CONTEMPORARY LIFE: IMPACTS AND HORIZONS, Campos do Jordão-SP. XII Brazilian MRS Meeting, 2013. P. 43-44.
- LI, H.;RASHEED, A.; HICKEY, L. T.; HE, Z.. . Fast-Forwarding Genetic Gain, *Trends in Plant Science*, v. 23, N. 3, pp. 184-186, March 2018
- PIERUSCHKA, R. *Participating Organisations*. Fonte: IPPN 2017: [https://www.plant-phenotyping.org/IPPN\\_Participating\\_Organisations](https://www.plant-phenotyping.org/IPPN_Participating_Organisations) (acessado em 10 de 09 de 2019).
- RODRIGUES, R. *AGRO E PAZ. ANÁLISES E PROPOSTAS PARA O BRASIL ALIMENTAR O MUNDO*. Piracicaba, SP, Brasil: Universidade de São Paulo – ESALQ, 2018, 416 p..
- ROY, F.; TARDIEU, F.; TIXIER-BOICHARD, M.; SCHURR, U.. European infrastructures for sustainable agriculture, *Nature Plants*, v.3, p. 756–758, 2017

- SCWARTZ, S. (04 de 01 de 2016). *How far are we from the 100\$ Phenome?*, disponível em Phenospex 2016: <https://phenospex.com/blog/how-far-are-we-from-the-100-phenome/> (Acessado em 10 de 09 de 2019).
- Seeds Market by type (Oilseed, Grain, Fruit & Vegetable, Turf, Forage, & Other Seeds), Seed Trait (Herbicide Tolerant, Insecticide Resistant, & Other Stacked Traits), <http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/seeds-market-376.html>. (Acessado em 14 de Outubro de 2016).
- VAN TUNEN, A. J.. Revisiting Plant & Seed Improvements in the Digital Phenotyping Era. IN: Pheno days 2013 <http://www.phenodays.com/archive.html> (Arquivo capturado em 13/08/2014);
- VASCONCELOS, Y. (10 de fevereiro de 2018). *Lavoura mais produtiva*. Acesso em 10 de 09 de 2019, disponível em Pesquisa Fapesp: <https://revistapesquisa.fapesp.br/2018/02/15/lavoura-mais-produtiva-2/>
- WOMERSLEY, J. (2016). *European Strategy Forum on Research Infrastructures (ESFRI): Strategy Report on Research Infrastructures*. Brussels: European Commission.



**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO EFLUENTE DE ESGOTO TRATADO EM FOSSAS SÉPTICAS BIODIGESTORAS INOCULADAS COM SUBSTITUTOS AO ESTERCO BOVINO FRESCO**P. A. Lara<sup>1,\*</sup>, C. R. Marmo<sup>2</sup>, W. T. L. da Silva<sup>2</sup><sup>1</sup> Universidade de São Paulo, Avenida Trabalhador São Carlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: paulalara@usp.br

**Resumo:** A Fossa Séptica Biodigestora é uma tecnologia simples desenvolvida para atender a necessidade de tratamento de esgoto doméstico em comunidades rurais sem acesso a saneamento básico adequado. O processo de digestão microbiana anaeróbia nesta tecnologia é potencializado pela aplicação de esterco bovino fresco, porém existem casos nos quais o acesso a este insumo é limitado. Com isto, faz-se necessário testar o desempenho de inóculos alternativos que possam substituir o uso de esterco bovino. Neste trabalho, foi avaliado o desempenho de dois substitutos: (i) sedimento de brejo e (ii) bioaditivo comercial para limpeza de fossas sépticas convencionais. Os efluentes obtidos nos sistemas inoculados com estes substitutos apresentaram concentrações de fósforo e cálcio similares às obtidas em efluentes de sistemas inoculados com esterco bovino, já as concentrações de nitrogênio, potássio e micronutrientes, foram menores. O efluente do sistema inoculado com sedimento de brejo apresentou valores menores de concentração de DBO, DQO e coliformes totais entre os sistemas avaliados, bem como em comparação com efluentes de sistemas tratados com esterco bovino. O sedimento de brejo foi o inóculo que apresentou o melhor desempenho e mostra-se como um potencial substituto ao esterco bovino utilizado na Fossa Séptica Biodigestora.

**Palavras-chave:** saneamento básico rural, biodigestão anaeróbia, reator anaeróbio simplificado, tratamento de esgoto, tratamento de efluente.

***QUALITY EVALUATION OF SEWAGE TREATED EFFLUENT FROM BIODIGESTER SEPTIC TANKS, OPERATING WITH ALTERNATIVE INOCULANTS TO FRESH CATTLE MANURE***

**Abstract:** The Biodigester Septic Tank is a simple technology designed to meet the need for sewage treatment in rural communities without access to adequate sanitation. The anaerobic microbial digestion process in this technology is enhanced by the application of fresh cattle manure, nevertheless, in some cases; the access to this resource is limited. Therefore, performance tests of alternative inoculants for fresh cattle manure are necessary. In this work, the performance of two substitutes, (i) bog sediment and (ii) commercial bioadditive for septic tanks cleaning, were evaluated. Phosphorus and Calcium concentrations in the effluent produced by the systems inoculated with these substitutes presented similar values to those obtained in effluents from systems inoculated with cattle manure; otherwise, Nitrogen, Potassium and micronutrients concentrations were smaller. BOD, COD and total coliforms concentrations in the effluent produced by system inoculated with bog sediment, were the lowest among the evaluated systems, and to those obtained in effluents from systems inoculated with cattle manure. Thus, bog sediment was the inoculant that showed better performance among the evaluated systems and is a potential substitute to fresh cattle manure used in the Biodigester Septic Tank.

**Keywords:** rural basic sanitation, anaerobic biodigestion, simplified anaerobic reactor, sewage water treatment, wastewater treatment.

## 1. Introdução

A Fossa Séptica Biodigestora é um sistema de biodigestão anaeróbia simples, desenvolvida para atender as necessidades de tratamento de esgoto doméstico em comunidades rurais que não têm acesso a saneamento básico adequado, sendo sua finalidade proteger a saúde da população, promover a conservação dos recursos hídricos por meio da substituição das fossas rudimentares (fossas negras) e auxiliar na produção agrícola mediante o uso do efluente tratado como biofertilizante (NOVAES et al., 2002, 2006; GALINDO et al., 2010). O seu funcionamento consiste na fermentação anaeróbia da matéria orgânica no esgoto pelos microrganismos presentes naturalmente nas fezes. Este processo é potencializado pela adição de esterco bovino fresco, que funciona como inóculo, aportando ao sistema uma seleção de bactérias anaeróbias que aumentam a eficiência do sistema, reduzem os odores e melhoram a qualidade do efluente tratado (SILVA; MARMO; LEONEL, 2017). Contudo, existem propriedades rurais que não possuem criação de gado bovino e/ou não tem fácil acesso a esterco bovino, o que dificulta a operação da tecnologia ou até mesmo inviabiliza sua instalação. Testes com esterco de ovino foram realizados na Fossa Séptica Biodigestora, porém, estes apresentaram uma menor eficiência na remoção de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e coliformes quando comparados com uma fossa inoculada com esterco de bovino (SILVA; FAUSTINO; NOVAES, 2007). De forma a minimizar as limitações do uso exclusivo de esterco bovino, faz-se necessário testar o desempenho de inóculos alternativos que possam ser usados em substituição. Neste trabalho, foram avaliados sistemas inoculados com dois tipos de substitutos: (i) sedimento de brejo (área alagada natural), reconhecidamente ricos em bactérias heterotróficas próprias de ambientes anóxicos (TORRES; INGLET; REDDY, 2011; BODELIER; DEDYSH, 2013), e (ii) um bioaditivo comercial para limpeza de fossas sépticas convencionais.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Descrição das fossas sépticas biodigestoras instaladas

- **Família da Silva (SLV) - sem inóculo**

O sistema foi instalado na propriedade do produtor Edinaldo Barros da Sillva, localizada no Sítio São Benedito, Estrada Velha São Carlos – Descalvado, km 16 (22°03'40,3"S, 47°46'55,8"O) no dia 01 de novembro de 2018, e não recebeu nenhum tipo de inóculo.

- **Família Marcatto (MCT) - bioaditivo comercial**

O sistema foi instalado na propriedade do produtor Luiz Donizetti Marcatto, localizada no Sítio Monte Alto, estrada velha São Carlos – Descalvado, km 06 (22°02'00,1"S, 47°50'54,3"O) no dia 26 de julho de 2018. O inóculo utilizado foi um bioaditivo comercial, composto pelas bactérias *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas stutzeri*, *Bacillus sp.* e *Escherichia hermanii* (Fossaklin, da empresa Bio-Brasil Limpeza Biológica LTDA). A inoculação começou com um “choque” biológico inicial no sistema, adicionando um sachê do produto (12,5 g) por dia durante 4 dias seguidos. Após o choque, a inoculação foi realizada uma vez por semana pelo proprietário. O produto foi aplicado diretamente na válvula de retenção antes da primeira caixa do sistema e a sua inserção era auxiliada pela adição de água na válvula (Figura 1).



Figura 1. Imagens da inoculação da Fossa Séptica Biodigestora com bioativo comercial. (a) Colocação do sachê com inóculo e (b) adição de água para levar o inóculo ao sistema biodigestor.

- **Família Zago (ZAG) - sedimento de brejo**

O sistema foi instalado na propriedade do produtor José Zago, localizada no Sítio São Benedito, estrada velha São Carlos – Descalvado, km 16 (22°03'38,3"S, 47°46'53,7"O) no dia 02 de agosto de 2018. O inóculo utilizado foi o sedimento de uma área alagada natural (brejo) localizada na mesma propriedade. Na primeira inoculação, foram coletados aproximadamente 8 litros de sedimento e aplicados diretamente na válvula de retenção sem nenhum procedimento além da retirada, por decantação rápida, do material grosseiro e do sedimento mais denso. A partir da segunda inoculação, o sedimento coletado foi filtrado com auxílio de um pano, retirando o material grosseiro e descartando o sedimento mais denso. Em seguida, meio copo (aproximadamente 100g) de sal de cozinha comercial (NaCl) era adicionado ao filtrado para auxiliar no processo de sedimentação dos colóides e facilitar a extração dos micro-organismos por meio do aumento da densidade do líquido, da quebra de micro-agregados e da ruptura de interações iônico-moleculares entre a membrana celular e o sedimento mineral. Após 10-15 minutos de reação, o sobrenadante era aplicado no sistema (Figura 2). Este procedimento foi realizado uma vez por mês, durante todo o período do experimento.



Figura 2. Imagens da inoculação da Fossa Séptica Biodigestora com sedimento de brejo. (a) coleta do material, (b) filtragem, (c) colocação de sal de cozinha e (d) colocação do líquido no sistema.

## 2.2. Amostragem

As amostras foram coletadas no terceiro (último) tanque dos sistemas, onde o efluente já passou pelo processo de tratamento. As coletas foram realizadas com o auxílio de uma haste modificada e de maneira que a amostra fosse o mais representativo e homogêneo possível. As coletas foram realizadas conforme a tabela 1.

Tabela 1. Datas das coletas, idade e estado dos sistemas na hora da coleta.

Coleta	Data	Idade do sistema de tratamento (dias)			Aplicação de inóculo alternativo		
		MCT*	ZAG*	SLV*	MCT*	ZAG*	SLV*
1	13/12/2018	138	131	-	NÃO	NÃO	-
2	24/01/2019	182	175	-	SIM	SIM	-
3	25/02/2019	214	207	116	SIM	SIM	NÃO
4	29/04/2019	277	270	179	SIM	SIM	NÃO
5	25/06/2019	334	327	236	SIM	SIM	NÃO

\*MCT = sistema inoculado com bioaditivo comercial; ZAG = sistema inoculado com sedimento de várzea; SLV = sistema sem inoculação.

## 2.3 Análises

Análises de macro (N, K, P, Ca, Mg) e micronutrientes (Fe, Zn, Mn), sódio (Na), cloretos, Carbono Orgânico Total (COT), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO, Demanda Química de Oxigênio (DQO), série de sólidos, condutividade elétrica, pH, cor aparente e turbidez, foram realizadas na saída do sistema, de forma a avaliar a qualidade do efluente tratado. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Saneamento da EESC – USP em São Carlos, seguindo a metodologia do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* e do *Handbook Hach – Water Analysis Handbook* (HACH COMPANY, 1992; APHA; AWWA; WEF, 2017).

### 3. Resultados e Discussão

Segundo as tabelas 2 a 4, as características do efluente tratado mostraram variações com o tempo, dados os valores de desvio padrão da média de cada parâmetro. Estas variações podem ser causadas por múltiplos fatores tais como: maturação biológica do sistema, mudanças alimentares dos usuários ou aumento temporário da frequência de uso dos banheiros (eventos familiares, datas comemorativas, etc.).

Tabela 2. Valores de DBO, DQO, coliformes e sólidos na saída dos sistemas (tanque 3).

Fossa	DBO	DQO	Coliformes Totais	<i>E. coli</i>	ST*	SST*	SDT*
	mg L <sup>-1</sup>		NPM**/100 mL (x 10 <sup>6</sup> )		mg L <sup>-1</sup>		
MCT	203 ± 76	395 ± 153	4,37 ± 3,13	1,13 ± 1,40	882 ± 228	60 ± 36	822 ± 215
ZAG	81 ± 18	180 ± 43	0,49 ± 0,63	0,02 ± 0,01	657 ± 56	44 ± 26	613 ± 62
SLV	182 ± 14	333 ± 84	2,31 ± 3,98	0,02 ± 0,03	706 ± 70	49 ± 10	657 ± 61

\* ST = Sólidos Totais; SST = Sólidos Suspensos Totais; SDT = Sólidos Dissolvidos Totais. \*\* Número mais provável.

A tabela 2 mostra os valores de concentração de DBO e DQO e valores de coliformes na saída dos sistemas. O sistema MCT foi aquele que apresentou os maiores valores destes parâmetros e a maior variação dos mesmos, dado o elevado valor do desvio padrão. Já o sistema ZAG foi o que apresentou, de forma geral, os menores valores e a menor variação destes parâmetros. Em comparação com os valores obtidos em efluentes tratados por sistemas inoculados com esterco bovino (FAUSTINO, 2007), o sistema ZAG apresenta valores menores de DBO e DQO, enquanto que os sistemas MCT e SLV apresentam valores maiores.

De maneira geral, as maiores concentrações de macronutrientes, sódio, cloretos e sólidos (Tabela 4) foram encontradas no sistema MCT, assim como os maiores valores de condutividade elétrica, cor e pH (Tabela 3). Com relação aos micronutrientes, os sistemas ZAG e SLV apresentaram maiores valores com exceção do manganês. A maior concentração de sólidos, observado no sistema MCT, pode indicar uma entrada maior de material bruto no sistema em comparação aos outros, explicando assim as maiores concentrações de outros parâmetros. Comparando as concentrações obtidas nos efluentes tratados pelos sistemas inoculados com esterco bovino (FAUSTINO, 2007), as concentrações de fósforo total (P) e cálcio (Ca<sup>2+</sup>) são próximas, mas as concentrações de Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), potássio (K<sup>+</sup>) e micronutrientes, em geral, são menores.

Tabela 3. Valores médios condutividade elétrica, cor, turbidez e pH do efluente tratado na saída do sistema.

Fossa	Condutividade Elétrica	Cor	Turbidez	pH
	μS cm <sup>-1</sup>	UC	NTU	
MCT	3021 ± 631	1530 ± 794	56,6 ± 37,2	8,3 ± 0,1
ZAG	2129 ± 278	1063 ± 361	71,0 ± 114,0	8,2 ± 0,1
SLV	2597 ± 174	1224 ± 195	69,8 ± 79,1	8,1 ± 0,1

Tabela 4. Valores médios de macro e micronutrientes, sódio e cloretos do efluente tratado na saída do sistema.

Fossa	NTK*	K <sup>+</sup>	P	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	COT*
	mg L <sup>-1</sup>					
MCT	407 ± 111	73,4 ± 19,2	40,4 ± 36,7	19,26 ± 5,50	8,68 ± 1,14	200,2 ± 50,3
ZAG	264 ± 82	44,0 ± 5,9	55,0 ± 25,7	18,05 ± 5,53	8,03 ± 1,01	129,4 ± 22,5
SLV	300 ± 34	57,1 ± 11,4	35,3 ± 26,7	19,90 ± 2,43	10,47 ± 0,71	167,0 ± 20,0

\*NTK = Nitrogênio Total Kjeldahl; COT = Carbono Orgânico Total; PT = fósforo total.

Tabela 5. Continuação

Fossa	Fe total	Zn <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>
	mg L <sup>-1</sup>				
MCT	0,17 ± 0,10	0,148 ± 0,034	0,036 ± 0,041	118 ± 29	170,8 ± 118,4
ZAG	0,40 ± 0,40	0,165 ± 0,060	0,027 ± 0,025	95 ± 6	112,3 ± 61,6
SLV	0,23 ± 0,09	0,174 ± 0,026	0,020 ± 0,008	80 ± 13	73,2 ± 60,0

#### 4. Conclusões

As especificidades do uso da Fossa Séptica Biodigestora em cada propriedade e o tipo de inóculo influenciam a qualidade do efluente tratado. Dada a qualidade do efluente tratado (DBO, DQO, coliformes, sólidos etc.), o sedimento de brejo foi o inóculo que apresentou, até o presente momento, melhor desempenho no tratamento de esgoto no sistema, pelo qual pode ser um possível substituto ao esterco bovino. Pelas características gerais dos efluentes tratados analisados, o seu uso agrícola como fonte de nutrientes e água, deve levar a resultados semelhantes àqueles observados com efluentes de sistemas inoculados com esterco bovino. A confirmação das tendências apresentadas nesse trabalho ocorrerá após o período de 12 meses (dez-2019/jan-2020), para avaliação da eficiência de tratamento nas diferentes condições climáticas do ano e avaliação do comportamento dos parâmetros.

#### Agradecimentos

À Fundação Banco do Brasil pelo apoio financeiro (Projeto 16977 / SEG-Embrapa 10.18.00.033.00.00) e aos produtores rurais, Luiz Donizetti Marcatto, José Zago e Edinaldo Barros da Silva pela disposição e comprometimento com a tecnologia e o projeto.

#### Referências

- APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23rd. ed. Washington, D.C.: APHA, 2017.
- BODELIER, P. L. E.; DEDYSH, S. N. Microbiology of wetlands. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, n. APR, 2013.
- FAUSTINO, A. S. **Estudos Físico-químicos do Efluente Produzido por Fossa Séptica Biodigestora e o Impacto do seu Uso no Solo**. 2007. Universidade Federal de São Carlos, 2007.
- GALINDO, N.; SILVA, W. T. L.; NOVAES, A. P.; GODOY, L. A.; SOARES, M. T. S.; GALVANI, F. **Perguntas e Respostas: Fossa Séptica Biodigestora**. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2010.
- HACH COMPANY. **Water Analysis Handbook**. 2nd. ed. Loveland: Hach Company, 1992.
- NOVAES, A. P.; SIMÕES, M. L.; INAMASU, R. Y.; JESUS, E. A. P.; MARTIN-NETO, L.; SANTIAGO, G.; DA SILVA, W. T. L. Saneamento Básico na Área Rural. In: SPADOTTO, C.; RIBEIRO, W. (Ed.). **Gestão de Resíduos na Agricultura e na Agroindústria**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2006. p. 262 – 275.
- NOVAES, A. P.; SIMÕES, M. L.; MARTIN-NETO, L.; CRUVINEL, P. E.; SANTANA, A.; NOVOTNY, E. H.; SANTIAGO, G.; NOGUEIRA, A. R. A. **Utilização de uma fossa séptica para melhoria do saneamento rural e desenvolvimento da agricultura orgânica**. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2002.
- SILVA, W. T. L. da; FAUSTINO, A. S.; NOVAES, A. P. de. **Eficiência do Processo de Biodigestão em Fossa Séptica Biodigestora Inoculada com Esterco de Ovino**. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2007.
- SILVA, W. T. L. da; MARMO, C. R.; LEONEL, L. F. **Memorial Descritivo: Montagem e Operação da Fossa Séptica Biodigestora**. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2017.
- TORRES, I. C.; INGLETT, K. S.; REDDY, K. R. Heterotrophic microbial activity in lake sediments: Effects of organic electron donors. **Biogeochemistry**, v. 104, n. 1–3, p. 165–181, 2011.

## CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FIBRAS DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR QUIMICAMENTE MODIFICADAS

R. G. Lazarini<sup>1,\*</sup>, J. M. Marconcini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13561-206, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: rafaelglazarini@gmail.com

**Resumo:** O bagaço da cana-de-açúcar constitui hoje um resíduo de grande volume na agroindústria nacional, mas com enorme potencial de aplicação em novos materiais como compósitos com matrizes poliméricas. De forma a melhorar a compatibilização com plásticos apolares para estas aplicações, tratamentos químicos podem ser feitos para modificar a estrutura lignocelulósica e a superfície das fibras de bagaço, podendo estes serem alcalinos ou ácidos. Este trabalho buscou analisar o efeito de tratamentos com hidróxido de sódio e ácido sulfúrico em diferentes concentrações (0,25 a 2,0 mol/L) sobre fibras de bagaço de cana-de-açúcar, por meio de caracterizações por difratometria de raios X (DRX) e espectroscopia no infravermelho (FTIR). Observou-se que tanto os tratamentos alcalinos quanto os ácidos aumentaram a cristalinidade das fibras, uma vez que parece ter havido remoção parcial de lignina e hemicelulose bem como fase amorfa da celulose. O efeito dos tratamentos alcalinos foi mais evidente, sendo que a cristalinidade ultrapassou 62% em baixa concentração, e os grupos químicos superficiais O-H da celulose ficaram mais expostos. De modo geral, tratamentos brandos dos dois tipos geraram resultados satisfatórios.

**Palavras-chave:** bagaço de cana-de-açúcar, fibras naturais, tratamento químico, mercerização, cristalinidade

### *STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF CHEMICALLY MODIFIED SUGARCANE BAGASSE FIBERS*

**Abstract:** Sugarcane bagasse nowadays represents a large volume residue in the national agribusiness, but has enormous potential for application in new materials such as polymer matrix composites. In order to improve compatibility with nonpolar plastics for these applications, chemical treatments (alkaline or acidic) may be made to modify the lignocellulosic structure and surface of the bagasse fibers. This study aimed to analyze the effect of treatments with sodium hydroxide and sulfuric acid in different concentrations (0.25 to 2.0 mol/L) on sugarcane bagasse fibers, by characterization by X-ray diffraction (XRD) and infrared spectroscopy (FTIR). Both alkaline and acid treatments increased the crystallinity of the fibers, since there seems to have been partial removal of lignin and hemicellulose as well as the amorphous phase of the cellulose. The effect of alkaline treatments was more evident, with crystallinity exceeding 62% at low concentration, and the surface O-H chemical groups of cellulose were more exposed. Overall, mild treatments of both types yielded satisfactory results.

**Keywords:** sugarcane bagasse, natural fibers, chemical treatment, mercerization, crystallinity

### 1. Introdução

Em virtude de sua grande variedade de espécies disponíveis, o Brasil apresenta um grande potencial de fontes de recursos renováveis. Diversas fibras naturais são produzidas em todo país, com diferentes propriedades químicas, físicas e mecânicas. As principais características vantajosas das fibras naturais são a biodegradabilidade baixa densidade e baixo custo quando comparadas com materiais similares nessa mesma área de aplicação (MALKAPURAM et al., 2009). Uma matéria-prima abundante e com potencial de uso para obtenção de compósitos são as fibras de bagaço de cana-de-açúcar. No Brasil, a estimativa de produção de bagaço como subproduto agrícola é de 200 milhões de toneladas compondo grande volume que poderia ser utilizado como matéria-prima na

confeção de novos materiais (CONAB, 2018).

Compósitos poliméricos termoplásticos reforçados com fibras vegetais se tornaram uma alternativa àqueles reforçados com fibra de vidro, por exemplo, há algum tempo, devido ao alto custodas fibras sintéticas e a necessidade de aplicar recursos renováveis e não poluentes (DE PAOLI, 2002; HOLBERY & HOUSTON, 2006). Além disso, a produção de nanofibras e nanocristais de celulose para incorporação em compósitos vêm ganhando espaço, dado diferentes propriedades podem ser obtida a partir de uma matéria-prima vegetal como o bagaço de cana de acordo com os processos utilizados (SILVA et al., 2009).

No caso de compósitos de matrizes poliolefínicas, a incompatibilidade devido à diferença na polaridade entre as fibras lignocelulósicas e o polímero é um dos desafios na pesquisa desses materiais, que focam em buscar melhor adesão entre as fases de modo a aumentar a eficiência na transferência de tensões e, conseqüentemente, melhorar as propriedades finais do compósito. Diferentes tratamentos superficiais fibras são propostos de modo a melhorar a adesão na interface matriz-fibra, sendo dois destacados: tratamento alcalino (mercerização) e tratamento ácido.

A mercerização provoca uma diminuição do grau de agregação das fibras devido ao rompimento de ligações de hidrogênio entre as cadeias celulósicas vizinhas, o que resulta em um rearranjo dos feixes de fibra, aumentando a superfície de contato. As fibras se tornam mais ásperas, o que favorece seu ancoramento na matriz polimérica (GOMES et al., 2004). Os álcalis exercem grande influência sobre a lignina, removendo-a consideravelmente (MARQUES et al., 2015). Já o tratamento ácido age rompendo a estrutura lignocelulósica por meio da solubilização dos carboidratos em meio ácido, agindo na digestão das hemiceluloses, mas secundariamente causa despolimerização da celulose majoritariamente em sua fase amorfa (RABELO, 2010).

Com o objetivo de otimizar pré-tratamentos químicos de processos posteriores como a formulação de compósitos e produção de nanocelulose, este trabalho buscou avaliar o efeito de diferentes soluções ácidas e alcalinas em fibras de bagaço de cana-de-açúcar observando as mudanças na estrutura cristalina da celulose e nos grupos químicos presentes em suas moléculas.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Materiais utilizados

Neste trabalho, utilizou-se como matéria-prima o bagaço de cana-de-açúcar *in natura* após moagem de extração do caldo na Usina Ipiranga Agroindustrial, de Descalvado/SP. Foram utilizados como reagentes para os tratamentos químicos ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) da Sigma-Aldrich (pureza de 95-98%) e hidróxido de sódio (NaOH) da Synth (pureza de 98%).

### 2.2. Metodologia

O bagaço de cana-de-açúcar *in natura* foi peneirado de modo a se separar a fibra da medula e de outros possíveis resíduos do processo de moagem. Para isso, a fração de fibra utilizada foi aquela que passou por uma peneira de 5 mesh e foi retida em uma peneira de 18 mesh. As fibras foram lavadas com água quente (60-70°C), na proporção 20:1 fibra/água (em massa), e posteriormente secas em estufa de circulação de ar a 60°C por 24 h. Alíquotas de 5 g de fibras foram separadas para cada tratamento químico realizado conforme indica a tabela 1.

Tabela 1. Tratamentos químicos realizados

Tipo de tratamento	Nome da amostra	Concentração	
Fibra não tratada	NT	-	
Tratamentos ácidos ( $H_2SO_4$ )	H1	1,33% v/v	0,25 mol/L
	H2	2,66% v/v	0,5 mol/L
	H5	5,33% v/v	1,0 mol/L
	H11	10,66% v/v	2,0 mol/L
Tratamentos alcalinos (NaOH)	Na1	1% m/v	0,25 mol/L
	Na2	2% m/v	0,5 mol/L
	Na4	4% m/v	1,0 mol/L
	Na8	8% m/v	2,0 mol/L

Cada amostra então foi adicionada à solução correspondente ao tratamento na proporção de 20:1 fibra/solução (em massa), permanecendo em agitação por 1 h a 60°C. Após o tratamento, as fibras foram lavadas até neutralização. Por fim, os materiais foram novamente secos e moídos em moinho de facas até tamanhos de 30 mesh para as posteriores caracterizações.

As fibras tratadas e não tratadas foram caracterizadas por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), em triplicata, e por difratometria de raios-X (DRX). A análise de FTIR foi feita no modo de Refletância Total Atenuada (ATR) com 64 varreduras por amostra, na região de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  e resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$ . Os difratogramas de raios-X foram obtidos varrendo ângulos  $2\theta$  entre 5 e 40°, com velocidade de varredura de 1° $\text{min}^{-1}$ . Os índices de cristalinidades da celulose ( $I_c$ ) das fibras vegetais foram obtidos utilizando-se o método de Segal (SEGAL et al., 1959), baseado na medida da intensidade da reflexão do plano cristalino 002, normalizada pelo mínimo amorfo de referência, calculado conforme a eq. 1, onde  $I_1$  é o mínimo local de difração (região amorfa) e  $I_2$  é o pico corresponde ao plano cristalino 002 da celulose.

$$I_c = \frac{I_2 - I_1}{I_2} \times 100\% \quad (1)$$

### 3. Resultados e Discussão

As fibras de bagaço de cana-de-açúcar, como toda fibra lignocelulósica, pode ser representada por uma matriz de lignina, amorfa, ligada a fibrilas de celulose por meio da hemicelulose. A celulose, por sua vez, é semicristalina, sendo possível observar sua estrutura cristalina (tipo I) através de difração de raios X. Os difratogramas das fibras de bagaço de cana estão representados na figura 1. Através destes, é possível detectar duas reflexões mais intensas, correspondentes aos planos 002 e 101 nos ângulos de 22,4° e 15,5°, aproximadamente. Tanto para os tratamentos ácidos quanto para os básicos não há diferença significativa em questões estruturais em relação à fibra não tratada. Não é possível notar, a princípio, deslocamentos, surgimentos e desaparecimento de planos cristalinos. Mesmo para tratamentos alcalinos mais fortes não houve alteração da estrutura da celulose do tipo para o tipo II.

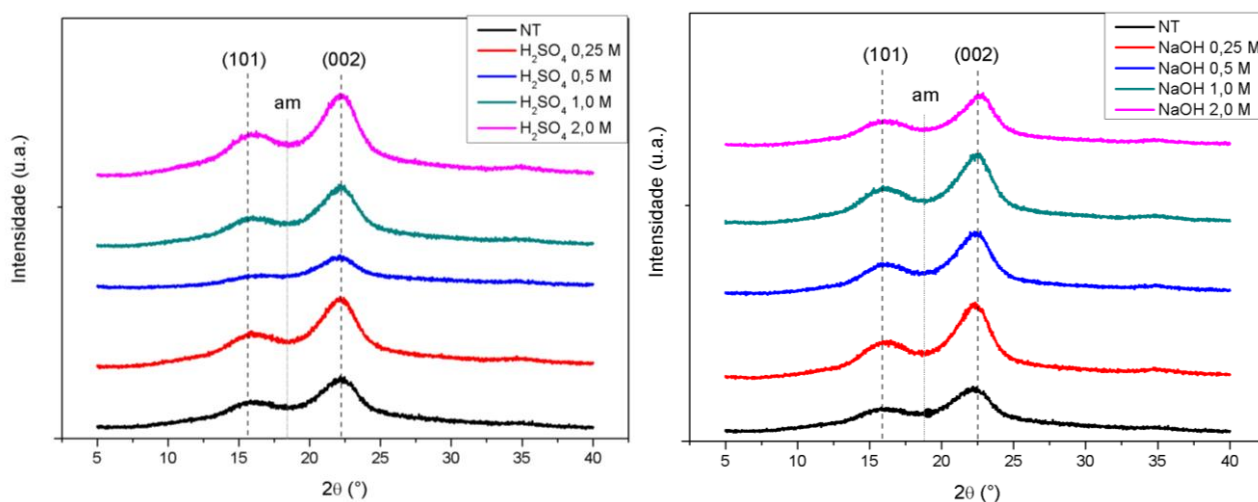


Figura 1. Difratogramas de raios X obtidos para os diferentes tratamentos em meio ácido (esq.) e em meio alcalino (dir.)

Porém, é possível notar um aumento na diferença de altura entre as reflexões cristalinas e a região amorfa, o que indica um aumento na cristalinidade total da fibra. A tabela 2 mostra os índices de cristalinidade calculados.



Tabela 2. Índices de cristalinidade das fibras para os diferentes tratamentos

Tratamento	Concentração (mol/L)	I <sub>c</sub> (%)
NT	-	52,6
	0,25	58,6
	0,5	59,2
	1,0	58,6
Ácido (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	2,0	57,5
	0,25	62,1
	0,5	62,7
	1,0	64,2
	2,0	63,8

Conforme esperado, os tratamentos ácidos aumentaram a cristalinidade das fibras, atingindo valor máximo na concentração de 0,5 mol/L, uma vez que sua ação principal é a hidrólise de carboidratos, isto é, hemicelulose e a fração amorfa da celulose. A partir de altas concentrações, a cinética de hidrólise é também capaz de digerir a fase cristalina da celulose. Além disso, os tratamentos alcalinos também elevaram o índice de cristalinidade, mais acentuadamente que os tratamentos ácidos, dado que removem grande parte da lignina, que é amorfa, aumentando a fração de cristais de celulose no total da amostra. Novamente, o índice de cristalinidade aumentou com a concentração de NaOH, atingindo seu máximo em 1,0 mol/L.

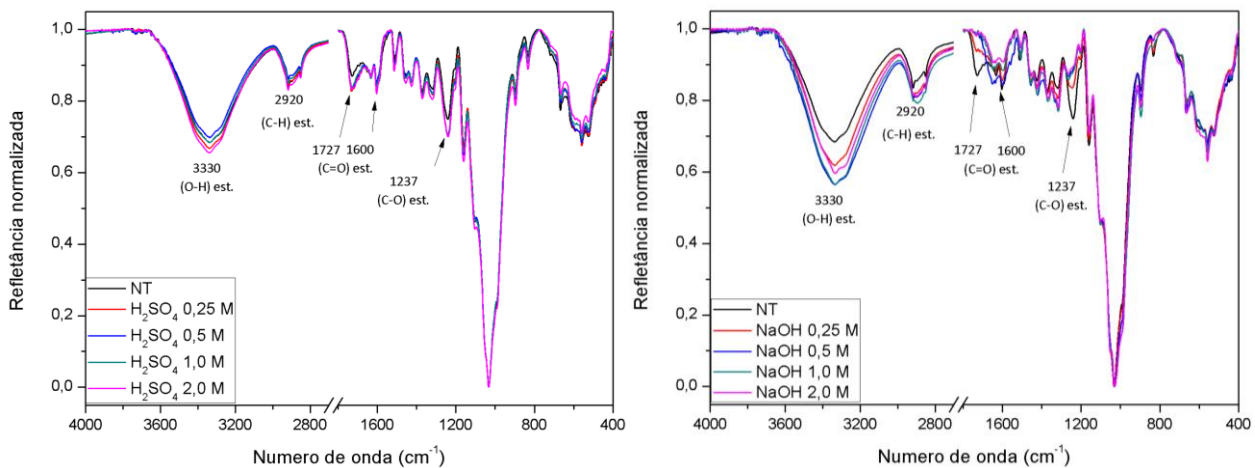


Figura 2. Espectros de infravermelho das fibras tratadas com solução ácida (esq.) e alcalina (dir.).

Do ponto de vista químico, é possível avaliar o efeito dos tratamentos nas ligações químicas presentes nas fibras através dos espectros de infravermelho, mostrados na figura 2. As principais bandas e os modos vibracionais de ligações químicas a que estas se referem estão indicados.

Para os espectros das fibras tratadas com ácido, poucas bandas possuem variações evidentes. As bandas na região de 3330 e de 2920 cm<sup>-1</sup> tiveram pequenos aumentos gradativos com o aumento da concentração. Já nos espectros das fibras que sofreram tratamentos alcalinos, mudanças químicas são mais perceptíveis. Há aumento considerável na intensidade da banda a 3330 cm<sup>-1</sup> com o aumento da concentração de álcali, o que mostra uma maior exposição de grupos hidroxila da celulose na superfície das fibras promovido pela remoção da lignina e extrativos. Além disso, reduções significativas nas bandas a 1727 e 1600 cm<sup>-1</sup>, correspondentes a ligações C=O de aldeídos conjugadas e não conjugadas, mostram remoção de hemicelulose e lignina, respectivamente. Por fim, a banda a 1237 cm<sup>-1</sup> correspondente a ligações C-O de ésteres alquila-árida é fortemente reduzida com o aumento da concentração de hidróxido, o que evidencia novamente a remoção de lignina da estrutura lignocelulósica das fibras (SIMÃO et al., 2016).

#### 4. Conclusões

Após realizar a varredura de concentrações de tratamentos ácidos e alcalinos, é possível notar que estes não geram mudanças na estrutura cristalina da celulose, porém houve aumento no índice de cristalinidade com o aumento da concentração das soluções, em especial para os tratamentos com hidróxido de sódio. A análise espectroscópica mostrou que alguns grupos químicos ficaram mais expostos e outros foram reduzidos com os tratamentos, porém os efeitos dos tratamentos alcalinos na remoção de lignina ficam mais evidentes, enquanto é possível notar que os tratamentos ácidos agem de forma sutil na fração amorfa da celulose e na hemicelulose nas concentrações testadas. De modo geral, os tratamentos com NaOH e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em concentrações tão baixas quanto 0,25 mol/L já promovem os efeitos desejados para melhoria de propriedades de compatibilização em compósitos poliméricos.

#### Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Os autores também agradecem ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia aplicada ao Agronegócio (LNNA) da Embrapa Instrumentação e à Rede Agronano pela infraestrutura e apoio cedidos.

#### Referências

- CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). **Acompanhamento da Safra Brasileira: Cana-de-açúcar**. v. 5, safra 2018/19, n. 2, p. 1-86. Brasília, 2018.
- DE PAOLI, M. A. Substituição de Fibra de Vidro por Fibras Vegetais, in: **6º Seminário das Comissões Técnicas da ABPol**, 2002.
- GOMES, A.; GODA, K.; OHGI, J. Effects of alkali treatments to reinforcement on tensile properties of curaua fiber green composites. **JSME International Journal**, series A, v.47, n.4, p. 541-546, 2004.
- HOLBERY, J.; HOUSTON, D. Natural Fiber Reinforced Polymer Composites in Automotive Applications. **JOM**. v. 58, n. 11, p. 80-86, 2006.
- MALKAPURAM, R.; KUMAR, V.; YUVRAJ, S.N. Recent development in natural fibre reinforced polypropylene composites. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, v. 28, n.10, p. 1169–1189, 2009.
- MARQUES, M. F. V. et al. Improvement of mechanical properties of natural fiber–polypropylene composites using successive alkaline treatments. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 12, 2015.
- RABELO, S. C. **Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração**. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, 2010.
- SEGAL, L. et al. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.
- SILVA, R. et al. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009.
- SIMÃO, José Alexandre et al. Effect of fiber treatment condition and coupling agent on the mechanical and thermal properties in highly filled composites of sugarcane bagasse fiber/PP. **Materials Research**, v. 19, n. 4, p. 746-751, 2016.

## **CAPÍTULO 5**

**Métodos e Técnicas de Caracterização de Solos, Plantas,  
Alimentos, Resíduos e Materiais de Interesse do Agronegócio**



**TEOR FOLIAR DE NITROGÊNIO EM MILHO FERTIRRIGADO COM EFLUENTE DE ESGOTO TRATADO**

Abreu, P. A. S.<sup>1</sup>, Costa, B. R. S.<sup>1</sup>, Oldoni, H.<sup>1</sup>, Silva, W. T. L.<sup>2</sup>, Bassoi, L. H.<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> FCA UNESP Depto de Engenharia Rural, Avenida Universitária, 3780, 18610-034, Botucatu, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, Caixa Postal 741, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: [luis.bassoi@embrapa.br](mailto:luis.bassoi@embrapa.br)

**Resumo:** O milho apresenta elevada exigência pelo nitrogênio e o monitoramento do seu teor foliar pode auxiliar no manejo nutricional dessa cultura. Dessa forma, um estudo foi realizado no município de São Carlos - SP para realizar a calibração de um equipamento portátil ClorofiLOG CFL 1030, que mede o índice relativo de clorofila, em função do teor foliar de nitrogênio. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram compostos por parcelas adubadas com NPK (ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio), EfPK (efluente de esgoto tratado, superfosfato simples e cloreto de potássio), Ef (efluente) e PK (superfosfato simples e cloreto de potássio). A calibração do equipamento foi realizada quando o milho se encontrava na fase de pendoamento. As folhas nas quais foram realizadas as leituras com o equipamento foram coletadas e enviadas ao laboratório para determinação do teor de nitrogênio. Foi observada correlação positiva entre os índices relativos de clorofila total (IRCT) e os teores foliares de nitrogênio. Os maiores valores de IRCT e teores foliares de nitrogênio foram encontrados no tratamento NPK, nas três medidas realizadas.

**Palavras-chave:** sensor de contato, calibração, índice relativo de clorofila, fossa séptica biodigestora.

**LEAF NITROGEN CONTENT IN CORN FERTIRRIGATED WITH TREATED SEWAGE EFFLUENT**

**Abstract:** Corn has a high demand for nitrogen and monitoring its leaf content may help the nutritional management on this crop. Thus, a study was carried out in São Carlos, state of São Paulo, Brazil, to calibrate a handheld equipment ClorofiLOG CFL 1030, which measures the relative chlorophyll index, as function of the leaf nitrogen content. The experimental design was a randomized block design with four treatments and three replications. The treatments consisted of plots fertilized with NPK (urea, simple superphosphate and potassium chloride), EfPK (treated sewage effluent, simple superphosphate and potassium chloride), Ef (effluent) and PK (simple superphosphate and potassium chloride). The calibration was performed when the corn was in the tearing phase. Leaves in which the readings were taken with the equipment were collected and sent to the laboratory for nitrogen content determination. A positive correlation was observed between relative total chlorophyll content (RTCC) and leaf nitrogen content. The highest values of RTCC and leaf nitrogen content were observed in NPK treatment, in all of the three evaluations.

**Keywords:** contact sensor, calibration, relative chlorophyll index, biodigester septic tank

**1. Introdução**

O milho é um dos cereais mais cultivados no mundo com produção equivalente a um bilhão de toneladas (FIESP, 2018). Um fator preponderante para obtenção de altas produtividades do milho é o correto fornecimento de nutrientes a cultura, com maior destaque para o nitrogênio, absorvido em maior quantidade, e indispensável na formação de aminoácidos, proteínas e clorofilas que auxiliam no desenvolvimento da planta e do grão; sua falta é a que mais limita a produção da cultura (OKUMURA et al., 2011).

A determinação de nitrogênio pela análise de solo é laboriosa, sendo a prática mais comum para recomendação de sua dose a ser aplicada a realizada por meio da produtividade a ser alcançada ou pelo diagnóstico do teor foliar de nitrogênio (SILVA, 2016). O diagnóstico é uma importante ferramenta para monitorar a situação nutricional do N na planta, levando os resultados em consideração na tomada de decisão de quanto e quando aplicar o nitrogênio (GODOY et al, 2006). No entanto, a técnica de análise de nitrogênio em tecido vegetal em laboratório é destrutiva.

A importância da escolha de uma técnica para determinar o teor foliar de nitrogênio é a possibilidade de verificar a falta ou o excesso desse nutriente na planta (RAMBO et al., 2004). O uso do medidor portátil para medir o índice relativo de clorofila é uma alternativa para se conhecer a situação do nitrogênio nas plantas. Esse método gera medidas indiretas, instantâneas e não destrutivas, os resultados gerados pelo equipamento se correlacionam positivamente com a clorofila e possivelmente com o teor de nitrogênio foliar (COELHO et al., 2011; MAIA et al., 2012).

Além do uso de fertilizantes nitrogenados minerais, também pode ser feito o uso do efluente de esgoto tratado como fertilizante para a cultura do milho. Essa prática pode trazer benefícios positivos, como disponibilizar nutrientes presentes na água de reúso à cultura; reduzir ao mesmo tempo o uso da água; aumentar a produção agrícola; e trazer benefícios ambientais (USEPA, 2012).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo obter uma curva de calibração do clorofilômetro para mensurar o teor foliar de nitrogênio na cultura do milho fertirrigada com efluente de esgoto tratado pela fossa séptica biodigestora.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Local de estudo e delineamento experimental**

O experimento foi realizado na área experimental do Laboratório de Referência Nacional em Agricultura de Precisão (LANAPRE), pertencente à Embrapa Instrumentação, em São Carlos, SP. A área encontra-se a 860 m de altitude e nas coordenadas geográficas de 21°57'13.9" S e 47°51'10.9" O. A cultivar de milho P4285VYHR foi semeada em 4 de outubro de 2018, em espaçamento entre fileiras de 0,8 m e entre plantas de 0,2 m, em um solo classificado como Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (SARTORELLI et al., 2007). A irrigação foi realizada por meio de sulcos entre as fileiras de plantas, e o manejo foi realizado com base na evapotranspiração da cultura. A colheita foi realizada em 4 de fevereiro do 2019, com 120 dias de ciclo. Os tratamentos utilizados foram: 1- NPK, plantas adubadas com fertilizante mineral via solo (ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio); 2- EfPK, plantas adubadas com efluente de esgoto tratado por fossa séptica biodigestora aplicado no sulco de irrigação (fonte de nitrogênio) e PK mineral via solo (superfosfato simples e cloreto de potássio); 3- Ef, plantas adubadas somente com efluente de esgoto tratado aplicado no sulco de irrigação; e 4- PK, plantas adubadas com PK mineral via solo (superfosfato simples e cloreto de potássio). Cada parcela experimental possuiu uma área de 43,2 m<sup>2</sup>, sendo 9,0 m de comprimento e 4,8 m de largura. O delineamento do experimento foi do tipo blocos casualizados, com quatro tratamentos e três repetições. O volume de Ef e a dose de fertilizantes minerais nas parcelas foi calculado em função da necessidade de N, P e K da cultura, segundo recomendação agrônômica (RAIJ et al., 1997).

### **2.2. Índice relativo de clorofila**

O índice relativo de clorofila foi determinado com o uso do equipamento portátil ClorofiLOG modelo CFL 1030 (Falker, Porto Alegre, Brasil) em 30 de novembro de 2018 (estádio V11; em 18 de dezembro de 2018 (estádio R2); e em 10 de janeiro de 2019 (estádio R3). Foram analisadas 16 plantas por parcela, sendo feita uma medida por planta na folha adjunta à espiga. As análises geraram valores de índice relativo de clorofila total (IRCT).

### **2.3. Curva de calibração do equipamento**

Para obter a curva de calibração do clorofilômetro para determinação do teor foliar de nitrogênio, foram realizadas medidas do índice relativo de clorofila total quando a cultura alcançou

100% de pendoamento nas parcelas (estádio R1). Foram utilizadas 30 plantas por parcela, com 3 medidas em uma folha. Todas as folhas medidas em cada parcela foram coletadas, armazenadas em sacos de papel, secas em estufa de circulação forçada a 65 °C por 72 horas, trituradas por um moinho, e analisadas para a determinação do teor de nitrogênio na matéria seca no Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Recursos Naturais da FCA UNESP, campus de Botucatu. Os valores médios do índice relativo de clorofila e do teor de nitrogênio na folha por parcela, em um total de 12 pontos, foram utilizados para a determinação da curva de calibração. Os teores de nitrogênio a partir do IRCT foram calculados pela equação gerada na calibração do equipamento.

### 3. Resultados e Discussão

Na tabela 1, observa-se a análise de variância para o índice relativo de clorofila total em três datas de avaliação. Houve diferença significativa a 1% entre os tratamentos nas três avaliações.

Tabela 1. Análise de variância para o índice relativo total (IRCT) em três datas de avaliação.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrados médios		
		30/11/2018 estádio V11	18/12/2018 estádio R2	10/01/2019 estádio R3
Tratamento	3	263,56**	344,55**	307,52**
Bloco	2	10,08 <sup>ns</sup>	1,95 <sup>ns</sup>	1,71 <sup>ns</sup>
Erro	6	1,23	1,68	1,62
C.V. (%)		2,47	2,83	3,00
Média geral		44,91	45,83	42,43

\*\* e ns: significativo a 1% de probabilidade e não significativo, respectivamente, pelo teste F

Os maiores valores de índice relativo de clorofila total nas três avaliações foram do tratamento NPK (Tabela 2). Apesar de utilizar a mesma dose de nitrogênio, os tratamentos EfPK e Ef não apresentaram os mesmos valores do NPK.

Tabela 2. Valores médios do índice relativo de clorofila total (IRCT) nos tratamentos NPK, EfPK, Ef e PK, em três datas de avaliação. Fontes de N, P e K minerais: ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio. Fonte do efluente de esgoto tratado (Ef): fossa séptica biodigestora.

Tratamentos	30/11/2018 estádio V11	18/12/2018 estádio R2	10/01/2019 estádio R3
NPK	54,01 a	57,63 a	54,94 a
EfPK	47,87 b	48,35 b	44,43 b
Ef	45,91 b	45,59 b	39,74 b
PK	31,84 c	31,73 c	30,61 c

Valores nas colunas seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

A determinação do teor de clorofila na folha, em condição de campo e utilizando-se equipamentos portáteis, pode ser correlacionada com o teor foliar de nitrogênio, pois há uma alta relação entre ambos (KUNESKI, 2017). Isso pode ser comprovado pela Figura 1, onde o índice relativo de clorofila total (IRCT), fornecido pelo equipamento ClorofiLOG tem relação positiva e significativa a 1% com os teores de nitrogênio foliar. Resultados semelhantes foram encontrados por Vargas et al. (2012), que conseguiram altas correlações entre o IRCT e o teor de nitrogênio nas folhas em diferentes estádios do milho. Souza et al. (2015) também encontraram altas correlações entre o IRCT e o nitrogênio foliar principalmente nos estádios iniciais de desenvolvimento do milho.

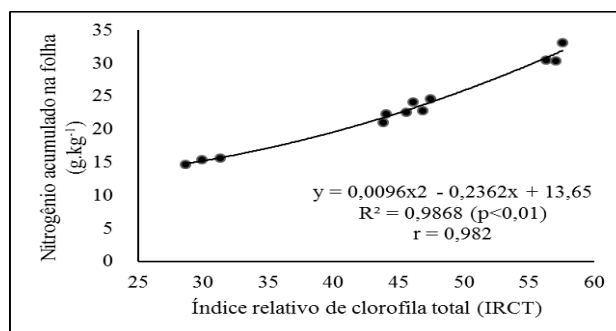


Figura 1. Teor foliar de nitrogênio em função do índice relativo de clorofila.

A Tabela 3 apresenta os teores foliares de nitrogênio determinados pela equação de calibração do clorofilômetro a partir do índice relativo de clorofila total nos estádios V11, R2 e R3. Houve diferença significativa a 1% entre tratamentos para teor de nitrogênio foliar em todos os estádios. Não houve diferença significativa entre blocos.

Tabela 3. Análise de variância para teor de nitrogênio foliar em três datas de avaliação determinado pela equação da curva de calibração do clorofilômetro.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado médio		
		30/11/2018 estádio V11	18/12/2018 estádio R2	10/01/2019 estádio R3
Tratamento	3	83,85**	130,89**	107,99**
Bloco	2	2,98 <sup>ns</sup>	0,50 <sup>ns</sup>	0,50 <sup>ns</sup>
Erro	6	0,36	0,40	0,58
C.V. (%)		2,63	2,67	3,53
Média geral		22,97	23,82	21,66

\*\* e ns: significativo a 1% de probabilidade e não significativo, respectivamente, pelo teste F

Os maiores valores de teor foliar de nitrogênio para os três estádios foram no tratamento NPK (Tabela 4). Os tratamentos EfPK e Ef não se diferiram, e o menor valor foi no tratamento PK. Das avaliações realizadas o maior acúmulo de nitrogênio na folha foi observado no estádio R2 para os tratamentos NPK e EfPK, indicando que o milho continuou acumulando nitrogênio após o início da fase reprodutiva. Nos tratamentos Ef e PK o máximo acúmulo de N ocorreu no estádio V11, e a partir do estádio R2 houve uma queda do teor desse nutriente devido a translocação para o grão. Nos tratamentos NPK e EfPK essa queda só foi observada a partir do estádio R3.

Tabela 4. Valores médios do teor foliar de nitrogênio nos tratamentos NPK, EfPK, Ef e PK, em três datas de avaliação. Fontes de N, P e K minerais: ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio. Fonte do efluente de esgoto tratado (Ef): fossa séptica biodigestora.

Tratamentos	31/11/2018 (V11)	18/12/2018 (R2)	31/10/2018 (R3)
NPK	28,61 a	31,93 a	29,66 a
EPK	24,35 b	24,67 b	22,12 b
EF	23,04 b	22,84 b	19,43 b
PK	15,89 c	15,85 c	15,43 c

Valores nas colunas seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 4. Conclusões

A correlação significativa existente entre o índice relativo de clorofila total e o teor foliar de N possibilita o uso do clorofilômetro para o monitoramento desse nutriente durante o ciclo da cultura do milho.

Os teores de nitrogênio nas folhas do milho foram maiores no tratamento NPK, seguido



pelos tratamentos com o uso do efluente de esgoto tratado (EfPK e Ef), sem que houvesse diferença entre ambos.

### **Agradecimentos**

À Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista (FCA UNESP) campus de Botucatu, pelo ensino em nível de pós-graduação; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico (CNPq) pela concessão de bolsas de estudo aos três primeiros autores; e à Embrapa Instrumentação pela infraestrutura para o desenvolvimento do trabalho de pesquisa.

### **Referências**

- COELHO, F. S. et al. Uso do clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura na batateira. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 29, n 2, p.4017- 4025, 2011.
- FIESP. Safra Mundial de Milho 2018/19 - 8º Levantamento do USDA. 2019. Disponível em:< <https://www.fiesp.com.br/arquivo-download/?id=246427>>. Acessado em 22 de agosto de 2019.
- GODOY, L. J. G. et al. Intensidade da cor verde e concentração de nitrogênio na lâmina foliar da grama Santo Agostinho como indicativos do estado nutricional em nitrogênio. In: *SIGRA*, 3, Anais, Botucatu, SP: UNESP/FCA, 2006.
- KUNESKI, H. F. Época de semeadura e resposta do milho ao parcelamento da adubação nitrogenada de cobertura em diferentes estádios fenológicos. 2017. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2017.
- MAIA, S. C. M. et al. Estimativa da necessidade de nitrogênio em cobertura no feijoeiro IAC Alvorada com clorofilômetro portátil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 34, n. 5, p. 2229-2238, 2013.
- OKUMURA, R. S. et al. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. *Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia* v.4, n.2, p. 226-235, 2011.
- RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agrônomico de Campinas, 1997.
- RAMBO, L. et al. Parâmetros de planta para aprimorar o manejo da adubação nitrogenada de cobertura em milho. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1637- 1645, 2004.
- SARTORELLI, P. A. R.; SILVA, J. M. S.; GORENSTEIN, M. R.; GOMES, J. E.; ÁVILA, E. Q. Rebrotas após fogo de espécies arbóreas de diferentes grupos fenológicos foliares em cerrado stricto sensu. *Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal*, n. 10, p.1-13, 2007.
- SILVA, T. A. Monitoramento do nitrogênio foliar em áreas comerciais de cacauzeiros clonais utilizando clorofilômetro e imagem digital. 2016. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2016.
- SOUZA, R. et al. Leituras de clorofila e teores de n em fases fenológicas do milho. *Colloquium Agrariae*, v. 11, n. 1, p .57-63, 2015.
- USEPA. Unites States Environmental Protection Agency. Guidelines for Water Reuse. EPA/600/R-12/618 Washington, DC, USA. 640p. 2012.
- VARGAS, V. P. et al. Os atributos nas folhas são mais eficientes que o N mineral no solo para avaliar a disponibilidade desse nutriente para o milho. *Bragantia*, Campinas, v. 71, n. 2, p.245-255, 2012.

**GLICEROL RESÍDUAL DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL UTILIZADO NA CONVERSÃO DE BIOGÁS POR PROCESSO BIOLÓGICO ANAERÓBIO**

L. V. Adames<sup>1,\*</sup>, L. O. Pires<sup>1</sup>, S. I. Maintinguer<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista - Instituto de Química, Rua Prof. Francisco Degni, 55, Quitandinha, 14800-060, Araraquara, SP

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista - Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN), Rua 10, Estádio, 2527, Rio Claro, SP

<sup>3</sup> UNIARA – Prgm PG Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente, Rua Carlos Gomes, 1338, 14801-340, Araraquara - SP

\* Autor correspondente, e-mail: luan.adames@unesp.br

**Resumo:** O glicerol residual, obtido na produção do biodiesel leva os produtores a buscarem fontes alternativas de consumo, como alternativa à purificação que apresenta custo elevado. Estudos indicam a viabilidade da utilização do glicerol como fonte de carbono para produção de biogás através da digestão anaeróbia. Os objetivos deste trabalho foram: construir e instalar três reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF: R1+R2+R3) em série, com alimentação contínua para a produção de hidrogênio e metano a partir de glicerol bruto, co-digerido em esgoto sanitário em diferentes proporções. O afluente do reator R1 foi constituído de 99% esgoto + 1% glicerol bruto (v/v) e obteve-se uma produção de 76 L H<sub>2</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup>, em ensaio I No ensaio II o afluente foi constituído de 98,5% de esgoto + 1,5% glicerol bruto, a produção foi de 46,2 L H<sub>2</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> no R1. No R2 a produção volumétrica de metano foi de 80,9 L CH<sub>4</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> no ensaio I para 103,6 L CH<sub>4</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> no ensaio II. No R3 a produção volumétrica de metano foi de 104,3 L CH<sub>4</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> no ensaio I para 60,8 L CH<sub>4</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> no ensaio II.

**Palavras-chave:** metano, hidrogênio, remoção de matéria orgânica, glicerina, agroindústria.

**RESIDUAL GLYCEROL FROM BIODIESEL PRODUCTION USED IN BIOGAS CONVERSION BY ANAEROBIC BIOLOGICAL PROCESS**

**Abstract:** Residual glycerol, obtained in the production of biodiesel, leads producers to search for alternative sources of consumption, as an alternative to high cost purification. Studies indicate the feasibility of using glycerol as a carbon source for biogas production through anaerobic digestion. The objectives of this work were: to construct and install three high-rate horizontal anaerobic reactors with fixed bed (HARFB: R1 + R2 + R3) in series, with continuous feed for the production of hydrogen and methane from raw glycerol, co-digested in sewage, in different proportions. The Affluent of reactor R1 was 99% sewage + 1% crude glycerol (v/v) and a yield of 76 L H<sub>2</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> was obtained, in test I. In test II the affluent was 98.5 % sewage + 1.5% crude glycerol, yield was 46.2 L H<sub>2</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> in R1. At R2 the volumetric methane production was from 80.9 L CH<sub>4</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> in test I to 103.6 L CH<sub>4</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> in test II. In R3 the volumetric methane production was from 104.3 L CH<sub>4</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> in test I to 60.8 L CH<sub>4</sub> m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> in test II.

**Keywords:** methane, hydrogen, removal of organic matter, glycerin, agroindustry.

**1. Introdução**

A busca e aceitação dos biocombustíveis tem aumentado consideravelmente na última década, motivada pela escassez de combustíveis fósil e preocupação com o aumento de emissão de gases poluentes e seu elevado custo (SANTIBÁÑEZ; VARNERO; BUSTAMANTE, 2011). O biodiesel vem se destacando por possuir vantagens como ser renovável, biodegradável, atóxico e sua combustão emite menores níveis de SO<sub>x</sub> (LÓPEZ et al., 2009).

O Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel, com uma capacidade de produção de mais de 8500 milhões de litros (BIODIESELBR, 2017). Cada tonelada de biodiesel produzido gera aproximadamente 100 kg de glicerol residual; principal coproduto da sua produção (MAINTINGUER; HATANAKA; OLIVEIRA, 2015).

O biodiesel é obtido através da transesterificação de triglicerídeos de origem animal ou vegetal. Tal reação é geralmente catalisada com metanol e uma base, como hidróxido de sódio, uma vez que a transesterificação básica é mais rápida do que a ácida (KOLESÁROVÁ et al., 2010). Neste processo de produção, o glicerol é o maior coproduto gerado e contém várias impurezas, tais como álcoois, ácidos graxos, ésteres, álcalis na forma de sabões e hidróxidos alcalinos, além de metais pesados (RIVERO et al., 2014). Apesar das amplas aplicações de glicerol puro na indústria farmacêutica, alimentar e cosmética, a sua purificação gera custo, especialmente para os pequenos e médios produtores de biodiesel (PACHAURI; HE, 2006). Nesse sentido, outras alternativas de manejo, vem sendo estudadas, onde a biodigestão anaeróbia do glicerol bruto vem apresentando uma série de vantagens, pois é possível sua conversão a hidrogênio e metano, que podem ser utilizados como biocombustíveis (SANTANA et al., 2016), evitando assim sua estocagem.

Para contornar a toxicidade que as impurezas contidas no glicerol bruto podem apresentar aos microrganismos, a co-digestão com outro efluente é uma estratégia para diluir compostos potencialmente tóxicos ou inibidores, além de fornecer uma maior variabilidade de nutrientes a microbiota anaeróbia (XIE et al., 2011).

O objetivo do trabalho foi avaliar a produção de biogás e remoção de glicerol bruto na co-digestão com esgoto sanitário, em três reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) instalados em série.

## 2. Materiais e Métodos

Foram instalados 3 RAHLF R1, R2 e R3 na área externa do IPBEN Lab Central (Rio Claro – SP) e mantidos com sistema auxiliar de controle de temperatura, que consistia em mangueiras de silicone enroladas por todo o comprimento dos reatores, onde a água aquecida em um banho maria (37°C) era recirculada de acordo com a temperatura do termostato acoplado na superfície dos reatores (Figura 1).

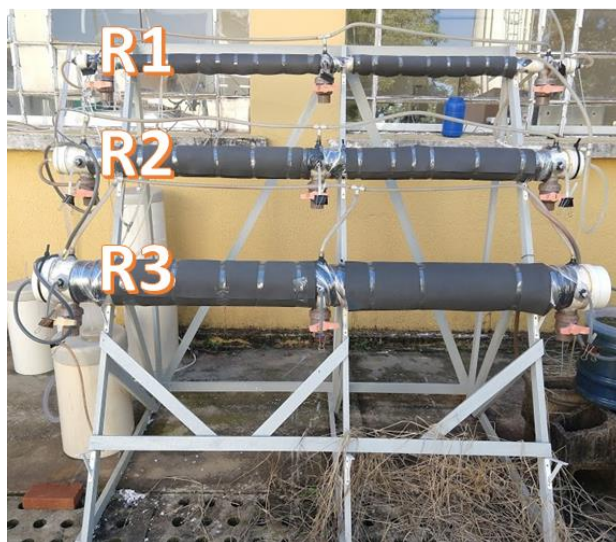


Figura 1. Sistema de reatores RAHLF (R1, R2, R3) instalados em série.

Os 3 reatores possuíam 2 metros de comprimento e diâmetros diferentes para favorecer as diferentes fases da digestão anaeróbia (R1: 5 cm, R2: 10 cm e R3 15 cm).

A velocidade de alimentação durante a operação ocorreu em ensaios distintos; Ensaio I e Ensaio II, que foi de 2,64 mL min<sup>-1</sup> e resultou em valores diferentes de tempos de detenção hidráulico (TDH), composição do efluente e DQO (Tabela 1).

Tabela 1. Tempo de detenção hidráulico (TDH), DQO e composição dos afluentes dos reatores em R1, R2 e R3 instalados em série durante os ensaio I e II.

	R1		R2		R3	
	DQO	TDH	DQO	TDH	DQO	TDH
<b>Ensaio I</b> (1% Glicerol bruto + 99% Esgoto)	13045	1,0	10744	4,2	8933	8,04
<b>Ensaio II</b> (1,5 % Glicerol bruto + 98,5 % Esgoto)	16674	1,0	13819	4,2	9528	8,04

# Demanda Química de Oxigênio (DQO):  $\text{mg L}^{-1}$ , Tempo de Detenção Hidráulico (TDH): dias.

O inoculo utilizado foi lodo granular proveniente de reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) tratando resíduos do abate de avicultura (Avícola Dacar – Tietê – SP).

O lodo granular usado no reator R1 recebeu tratamento ácido (pH 3,0 por 24 h), para inibição da metanogênese. Os reatores R2 e R3 foram inoculados com o lodo granular *in natura*.

O esgoto sanitário foi cedido pela Estação de Tratamento de Esgotos (ETE Rio Claro – SP) e o glicerol bruto por empresa de purificação de glicerina, obtido na transesterificação de óleos vegetais e sebo animal.

Os afluentes e efluentes dos reatores em série foram monitorados semanalmente em: Demanda química de oxigênio (DQO), pH (APHA; AWWA; WEF, 2005); Ácidos Graxos Voláteis (AGV) (DILALLO; ALBERTSON, 1961), e Glicerol Livre (BONDIOLI; DELLA BELLA, 2005).

### 3. Resultados e Discussão

A conversão da DQO em ácidos graxos voláteis (AGV) ocorreu nos 3 reatores, mostrando que a etapa limitante na degradação não ocorreu na hidrólise do glicerol bruto. O valor médio de AGV no efluente do R1 foi de  $289 \text{ mg L}^{-1} (\pm 405)$  no ensaio I para  $385 \text{ mg L}^{-1} (\pm 234)$  no ensaio II, mostrando que não houve efeito de toxicidade no aumento da concentração de glicerol bruto no afluente.

As médias de glicerol livre no afluente do R1 foram de  $2195 \text{ mg L}^{-1} (\pm 314)$  (ensaio I). Grande parte do glicerol já foi degradada no R1, que obteve um efluente com média de glicerol livre de  $291 \text{ mg L}^{-1} (\pm 431)$ , ou seja, 91,2% do glicerol bruto foi removido já no primeiro reator.

Além do indicativo da produção de ácidos e pH reduzido no reator R1, foi confirmado através de análise cromatográfica a produção de  $\text{H}_2$  e não foi detectado  $\text{CH}_4$ , mostrando que o pré-tratamento do lodo, assim como as condições operacionais, contribuíram para inibição das arqueias metanogênicas, onde a composição do biogás do reator R1 era apenas  $\text{H}_2$  e  $\text{CO}_2$ . Nas condições operacionais do ensaio I, obteve-se uma média de produção volumétrica de hidrogênio no R1 de  $74,7 (\pm 78) \text{ L de H}_2 \text{ por m}^3 \text{ d}^{-1}$  (Figura 2).

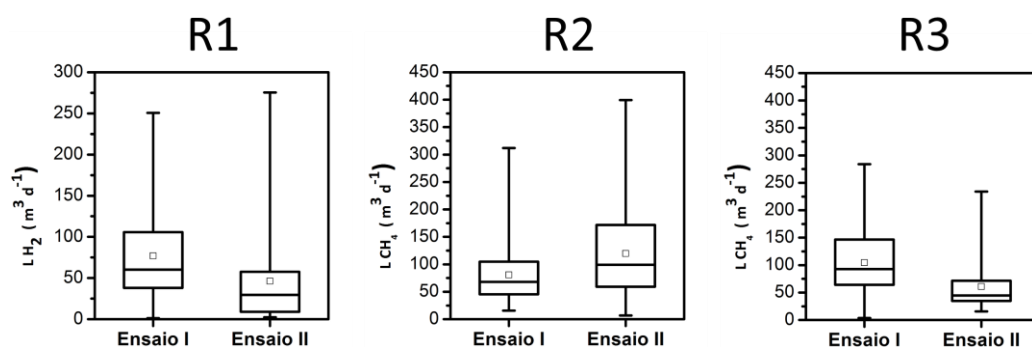


Figura 2. Produções volumétricas de metano e hidrogênio nos reatores RAHLF (R1, R2 e R3) instalados em série durante os ensaios I e II.

O maior pico de produção de  $H_2$  atingido no reator R1 foi de  $1,04 \text{ L } H_2 \text{ d}^{-1}$ , durante o ensaio II (Figura 2). Já Varrone et al. (2013) obtiveram produções mais elevadas que foram de  $2,96 \text{ L } H_2 \text{ d}^{-1}$ . Entretanto, os autores utilizaram inóculo previamente enriquecido para favorecer os microrganismos fermentadores de glicerol, além da alimentação dos reatores com glicerina contendo índice elevado de pureza. No presente estudo foi utilizado glicerol bruto que contém contaminantes da reação de transesterificação da produção do biodiesel, principalmente sabões e metanol que podem ter efeito tóxico para os microrganismos (RODRIGUES et al., 2019).

Durante o ensaio I, a produção média nos reatores metanogênicos foi de  $80,9 (\pm 52)$  e  $104,3 (\pm 64) \text{ L de } CH_4 \text{ por } m^3 \text{ d}^{-1}$  para os reatores R2 e R3, respectivamente.

No ensaio II observou-se aumento na produção volumétrica média no R2 para  $113 \text{ L de } CH_4 \text{ por } m^3 \text{ d}^{-1} (\pm 87)$ , e decaimento no R3 para  $60,8 \text{ L de } CH_4 \text{ por } m^3 \text{ d}^{-1} (\pm 44)$  (Figura 2). Por se tratar de reatores instalados em série, a microbiota metanogênica no R2 conseguiu atingir um melhor consumo dos ácidos e conversão à metano durante o ensaio II, o que explica a diminuição na produção volumétrica de metano no R3. Em reatores com agitação contínua em batelada, Athanoulia et al. (2014) observaram instabilidades na digestão de glicerol e lodo de esgoto de ETE em COV (Carga Orgânica Volumétrica) mais elevadas, culminando na falência da operação com o aumento da proporção de glicerol no afluente para 4% (v/v). Entretanto, no presente estudo o comportamento de adaptação nos reatores na degradação do glicerol bruto, indicaram a possibilidade de novos testes em cargas mais elevadas de glicerol.

#### 4. Conclusões

O sistema de reatores em série foi eficiente na degradação do glicerol bruto.

A maior parte do glicerol foi convertido em ácidos graxos voláteis e  $H_2$  no reator R1.

A microbiota metanogênica dos reatores R2 e R3 foi eficiente na conversão dos ácidos em metano com produções de  $399,5$  e  $283,0 \text{ L de } CH_4 \text{ por } m^3 \text{ d}^{-1}$ , respectivamente.

A remoção de DQO de até 99,9% comprovando a eficiência no sistema de reatores em série em alcançar um efluente de qualidade que atinja parâmetros ambientais.

#### Agradecimentos

CNPq, FAPESP (Proc 2017/16795-3) e Capes.

#### Referências

- APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. Washington DC, USA.: American Public Health Association, 2005.
- ATHANASOULIA, E.; MELIDIS, P.; AIVASIDIS, A. Co-digestion of sewage sludge and crude glycerol from biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 62, n. PA, p. 73–78, fev. 2014.
- BIODIESELBR. **Usinas de Biodiesel no Brasil**. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/usinas/>>. Acesso em: 20 maio. 2017.
- BONDIOLI, P.; DELLA BELLA, L. An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel. **EUROPEAN JOURNAL OF LIPID SCIENCE AND TECHNOLOGY**, v. 107, n. 3, p. 153–157, mar. 2005.
- DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile acids by direct titration. **Journal of Water Pollution**, v. 33, n. 4, p. 356, 1961.
- KOLESÁROVÁ, N. et al. Biodiesel by-products as potential substrates for biogas production. **37th International Conference of SSCHE**, p. 1126–1139, 2010.
- LÓPEZ, J. Á. S. et al. Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5609–5615, 2009.
- MAINTINGUER, S. I.; HATANAKA, R. R.; OLIVEIRA, J. E. DE. Glycerol as a Raw Material for Hydrogen Production. In: **Biofuels - Status and Perspective**. [s.l.] InTech, 2015. p. 580.
- PACHAURI, N.; HE, B. Value-added Utilization of Crude Glycerol from Biodiesel Production : A Survey of Current Research Activities. **American Society of Agriculture and Biological**

- Engineers**, v. 0300, n. 06, p. 1–16, 2006.
- RIVERO, M.; SOLERA, R.; PEREZ, M. Anaerobic mesophilic co-digestion of sewage sludge with glycerol: Enhanced biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 6, p. 2481–2488, 2014.
- RODRIGUES, C. V. et al. Bioconversion of crude glycerol from waste cooking oils into hydrogen by sub-tropical mixed and pure cultures. **International Journal of Hydrogen Energy**, p. 144–154, 2019.
- SANTANA, K. O. et al. Hydrogen bioproduction from crude glycerol and wastewater. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB (Online)**, v. 8, p. 1–14, 2016.
- SANTIBÁÑEZ, C.; VARNERO, M. T.; BUSTAMANTE, M. Residual Glycerol from Biodiesel Manufacturing, Waste or Potential Source of Bioenergy: A Review. **Chilean journal of agricultural research**, v. 71, n. 3, p. 469–475, 2011.
- VARRONE, C. et al. Enrichment of activated sludge for enhanced hydrogen production from crude glycerol. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 3, p. 1319–1331, 2013.
- XIE, S. et al. Effect of pig manure to grass silage ratio on methane production in batch anaerobic co-digestion of concentrated pig manure and grass silage. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 5728–5733, 2011.

**ESPECTROSCOPIA DE REFLECTÂNCIA DIFUSA E SUSCETIBILIDADE MAGNÉTICA  
NA PREDIÇÃO E MAPEAMENTO DOS ESTOQUES DE C E N DO SOLO**A. S. R. S. Bahia<sup>1,\*</sup>, A. R. C. Lima<sup>1</sup>, T. P. Melo<sup>1</sup>, F. Ongaratto<sup>1</sup>, R. A. Reis<sup>1</sup>, J. Marques Jr<sup>1</sup><sup>1</sup>*Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP**\* Autor correspondente, e-mail: angelicasantosrabelo@yahoo.com.br*

**Resumo:** O desenvolvimento de métodos rápidos e precisos para quantificar os atributos do solo é de suma importância para permitir o mapeamento detalhado. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a capacidade de predição dos estoques de C e N do solo por meio de espectroscopia de reflectância difusa (ERD) e suscetibilidade magnética (SM) e avaliar a variabilidade espacial destes atributos. Foram coletadas 372 amostras de solo aos quais foram utilizadas para quantificação dos estoques, bem como análise espectral e magnética. Para desenvolver modelos baseados em espectros de solo e dados laboratoriais, foi utilizada a regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR). Os modelos baseados em SM foram calibrados por regressão linear entre dados magnéticos e laboratoriais. Bons parâmetros de precisão da predição foram obtidos entre o estoque de C com ERD ( $r = 0,87$ ; RMSE = 1,24) e SM ( $r = 0,88$ ; RMSE = 1,98), bem como do estoque de N com ERD ( $r = 0,82$ ; RMSE = 2,1) e SM ( $r = 0,78$ ; RMSE = 2,4), revelando que estes são bons preditores de importantes atributos do solo. Portanto, ERD e SM são úteis para o planejamento estratégico do uso e ocupação do solo, monitoramento ambiental e mapeamento detalhado de grandes áreas.

**Palavras-chave:** quimiometria, assinatura magnética, pedometria.

***DIFFUSE REFLECTANCE SPECTROSCOPY AND MAGNETIC SUSCEPTIBILITY IN  
PREDICTION AND MAPPING OF SOIL C AND N STOCKS***

**Abstract:** The development of fast and accurate methods to quantify soil attributes is of paramount importance to enable detailed mapping. The aims of this work were to evaluate the prediction capacity of soil C and N stocks by diffuse reflectance spectroscopy (DRS) and magnetic susceptibility (MS), and evaluate the spatial variability of this attributes. Soil samples were collected at 372 sites and used for laboratory analysis. To develop models based on soil spectra and laboratory data, the partial least squares regression (PLSR) was used. Already, the MS-based models were calibrated by linear regression between magnetic and laboratory data. Good prediction accuracy parameters were obtained between the C stock with DRS ( $r = 0.87$ ; RMSE = 1.24) and MS ( $r = 0.88$ ; RMSE = 1.98), as well as the N stock with DRS ( $r = 0.82$ ; RMSE = 2.1) and MS ( $r = 0.78$ ; RMSE = 2.4), revealing that these are good predictors of important soils properties. Therefore, DRS and MS are useful for strategic land use planning, environmental monitoring and detailed mapping of large areas.

**Keywords:** chemometrics, magnetic signature, pedometrics.

**1. Introdução**

O C e o N totais do solo desempenham papéis essenciais na saúde do solo e na dinâmica do ecossistema. O C total pode melhorar a fertilidade, qualidade e retenção de água no solo aumentando a produção agrícola (MUÑOZ e KRAVCHENKO, 2011). O N total, um macronutriente essencial para o crescimento das plantas, também é um dos principais determinantes e indicadores da fertilidade e qualidade do solo, além de ser o nutriente mais comumente deficiente no solo (MILLER e GARDINER, 1998). O C total do solo é a força motriz da atividade biológica, servindo como fonte primária de energia e nutrientes para muitos organismos do solo e um fator importante que afeta a mineralização e imobilização do N nos solos (LANG et al., 2010). O C e o N são os principais componentes da matéria orgânica do solo e os seus estoques variam em função das taxas de adição por resíduos vegetais e animais, e de perda decorrentes, por exemplo, da erosão e

oxidação pelos microrganismos do solo. Assim, a predição destes estoques é necessária para a uma gama de aplicações agrícolas e ambientais (MUÑOZ e KRAVCHENKO, 2011).

Durante décadas, metodologias clássicas de laboratório foram utilizadas para obter estes atributos. No entanto, estes métodos são demorados, caros, destroem a amostra de solo durante a análise e geram resíduos químicos. Assim, o desenvolvimento de métodos rápidos, precisos e de baixo custo para quantificar os atributos do solo é de suma importância. Neste sentido, a espectroscopia de reflectância difusa (ERD) e a suscetibilidade magnética (SM) atendem a essa necessidade, pois são duas ferramentas utilizadas para estimar os atributos do solo com eficácia (MCBRATNEY et al., 2006; BAHIA et al., 2015, 2017). Estas técnicas são precisas, rápidas, não destrutivas e de baixo custo, requerem pouca preparação de amostras e podem ser realizadas in situ, possuindo grande utilidade para fins de mapeamento. Com isso, o desenvolvimento de modelos preditivos para os atributos do solo usando ERD e SM permitiria a análise de um maior número de amostras. Portanto, os objetivos deste trabalho foram investigar se a espectroscopia de reflectância difusa e a suscetibilidade magnética podem ser aplicadas para predição dos estoques de C e N do solo numa região de transição arenito-basalto e caracterizar a distribuição espacial destes atributos.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Área de estudo**

A área de estudo de 900 ha está localizada no município de Guatapar, nordeste do estado de São Paulo (2128'45"S e 4801'01"W). Essa rea foi escolhida devido à presença de grande variação de classes de solos, formas da paisagem e de uma transição geológica entre arenito-basalto na província geomorfológica do Planalto Ocidental Paulista, próxima ao limite das Cuestas Basálticas. Este tipo de transição geológica representa cerca de 44.000 ha do estado de São Paulo (IPT, 1981), por isso, os resultados podem ser extrapolados para outras regiões. Os solos encontrados na área são: Latossolo Vermelho eutroférico (LVef); Latossolo Vermelho distrófico (LVd); Latossolo Vermelho distrófico (LVdf); Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd); Neossolo Quartzarênico rtico distrófico (RQod) (SANTOS et al., 2018). Na rea de estudo foi instalada uma malha de amostragem regular contendo 372 pontos, com espaçamento entre pontos variando de 142 a 174 m. As amostras de solo foram coletadas na profundidade de 0,0-0,2 m.

### **2.2. Metodologia de laboratório**

Os teores totais de C e N do solo foram determinados por combustão via seca, no equipamento LECO CN-2000. O carbono (na forma de CO<sub>2</sub>) foi medido em detector infravermelho. O cáculo dos teores totais foi efetuado mediante curvas de calibração cruzada e com base no peso da amostra analisada. Os estoques de C e N (em t ha<sup>-1</sup>) foram calculados com base na massa de solo equivalente (BAYER et al., 2000), pela expressão EC ou EN = (C ou N × Ds × E)/10, sendo EC e EN os estoques de C e N (t ha<sup>-1</sup>), C  o teor de C (g kg<sup>-1</sup>), N é o teor de N (g kg<sup>-1</sup>), Ds a densidade do solo (g cm<sup>-3</sup>) e E a espessura das camadas estudadas (20 cm). Para a obtenção dos espectros de reflectância difusa, as amostras de solo foram trituradas num almofariz de gata até homogeneização (BARRÓN e TORRENT, 1986). Os valores de reflectância foram registrados num espectrofotômetro 950 UV/Vis/NIR, equipado com uma esfera de integração de 150 mm de diâmetro, em intervalos de 0,5 nm ao longo da faixa do visível (Vis) e infravermelho próximo (NIR) (380 a 2300 nm). A suscetibilidade magnética foi analisada nas amostras de solo pelo medidor MS2 Bartington. Com este sensor foi possível medir a SM utilizando um campo magnético baixo e alternado, de intensidade de 80 A m<sup>-1</sup> (10<sup>-4</sup> T) e de frequência variada (DEARING, 1994).

### **2.3. Análise dos dados**

Os dados foram submetidos à estatística descritiva pelo cáculo da média, desvio padrão e coeficiente de variação utilizando o software SAS. A fim de verificar as diferenças estatísticas entre os valores médios dos atributos estudados considerando os compartimentos, o teste de Tukey a 5% de probabilidade foi aplicado aos dados. Para desenvolver funções de pedotransferência (FPTs) baseados em espectros de solo e dados laboratoriais, foi utilizada a regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR) utilizando o Parles (VISCARRA ROSSEL, 2008). J as FPTs baseadas na SM foram calibradas por regressão linear entre dados magnéticos e laboratoriais. A avaliação da



precisão das FPTs foi feita através da análise dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e correlação ( $r$ ), RMSE (erro quadrático médio), RPD (desvio residual da predição) e o índice de concordância de Willmott ( $d$ ). A caracterização da variabilidade espacial dos atributos estudados foi realizada por meio da análise geoestatística com a modelagem de variogramas experimentais e posterior interpolação por krigagem ordinária (VIEIRA et al., 2000). As estimativas dos modelos de semivariância e a realização da krigagem ordinária foram obtidas no programa GS+ Versão 9.0; o software Surfer Versão 9.0 foi utilizado para a construção dos mapas de distribuição espacial.

### 3. Resultados e Discussão

Os estoques de C e N do solo variaram, respectivamente, de 19,5 a 52,6 t ha<sup>-1</sup> (média de 36,6 t ha<sup>-1</sup>) e de 2,9 a 4,4 t ha<sup>-1</sup> (média de 3,7 t ha<sup>-1</sup>) (Tabela 1). Os valores médios do estoque de C para as classes de Latossolos (de 31 a 52 t ha<sup>-1</sup>) estão de acordo com os valores observados por CIDIN (2016), que encontrou valor médio de 53,2 t ha<sup>-1</sup>. Por meio dos valores de CV, nota-se uma discrepância significativa dos atributos referente às classes de solo. Este resultado evidencia que as classes de solos refletem a variabilidade dos estoques de C e N na área.

Tabela 1. Média, desvio padrão e coeficiente de variação para os atributos químicos e estoques de C e N do solo em função dos compartimentos estratificadores.

	Estoque de C (t ha <sup>-1</sup> )			Estoque de N (t ha <sup>-1</sup> )		
	Média	DP	CV	Média	DP	CV
LVef	52,6a	8,0	15,2	4,4a	0,5	11,6
LVdf	47,7a	13,6	28,4	4,2a	0,9	20,1
LVd	31,8b	10,2	32,0	3,6b	0,6	16,4
LVAd	31,6b	9,6	30,5	3,6b	0,5	14,5
RQod	19,5c	4,1	21,0	2,9c	0,3	10,1

LVef- Latossolo Vermelho eutroférico, LVdf- Latossolo Vermelho distroférico, LVd- Latossolo Vermelho distrófico, LVAd- Latossolo Vermelho Amarelo distrófico, RQod- Neossolo Quartzarênico órtico distrófico, DP- desvio padrão, CV- coeficiente de variação. Médias seguidas pelas mesmas letras em uma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Foram encontradas correlações positivas do estoque de C com ERD ( $r = 0,87$ ;  $p < 0,05$ ) e SM ( $r = 0,88$ ;  $p < 0,05$ ), bem como do estoque de N com ERD ( $r = 0,82$ ;  $p < 0,05$ ) e SM ( $r = 0,78$ ;  $p < 0,05$ ) (Tabela 2). As funções de pedotransferências (FPTs) apresentaram bons parâmetros de precisão e acurácia (maiores valores de  $R^2$  e  $RPD > 2$ , e menores valores de RMSE), principalmente para a predição do C. O bom desempenho das FPTs pela ERD deve-se ao fato da região NIR do espectro apresentar informações relacionadas a estes elementos, devido a várias ligações químicas (C-C, C=C, C-H, C-N, N-H), de acordo com XIE et al. (2011). Já, a SM está diretamente relacionada ao C e N porque esses atributos estão relacionados à dinâmica da atividade microbiana do solo (BAYER et al., 2000). A predição do N apresentou os menores coeficientes de precisão devido à natureza instável deste elemento, resultado principalmente do grande número de reações químicas que está sujeito no solo. Os resultados indicam que tanto a ERD quanto a SM tem potencial de prever valores desconhecidos. Portanto, a quantificação indireta dos atributos do solo se destaca como uma alternativa para viabilizar a caracterização detalhada de diversos atributos, com potencial para aplicação em estudos agropecuários, urbanos e ambientais.

Tabela 2. Funções de pedotransferência para os estoques de C e N utilizando espectroscopia de reflectância difusa (ERD) e suscetibilidade magnética (SM).

Funções de pedotransferência (FPTs)	$R^2$	$r$	RMSE	RPD	$d$	AD ( $p$ )
(1) $EstoqueC = 10,91 + 0,69ERD$	0,75	0,87	1,24	2,11	0,96	<0,05
(2) $EstoqueC = 24,49 + 0,006SM$	0,78	0,88	1,98	2,62	0,92	<0,05
(3) $EstoqueN = 1,71 + 0,54ERD$	0,68	0,82	2,10	2,76	0,73	<0,05
(4) $EstoqueN = 3,18 + 0,0003SM$	0,61	0,78	2,40	2,89	0,71	<0,05

$R^2$ - coeficiente de determinação,  $r$ - coeficiente de correlação, RMSE- erro quadrático médio, RPD- desvio residual da predição,  $d$ - índice de concordância de Willmott, AD- Teste de normalidade Anderson-Darling ( $p > 0,05$  distribuição normal dos dados).

Com o intuito de testar o poder de predição da ERD e SM, os teores dos atributos observados, bem como os preditos por ambas as técnicas indiretas foram submetidos à análise geoestatística. Todos os atributos analisados apresentaram dependência espacial, expressa por meio dos ajustes dos variogramas (VIEIRA, 2000). O modelo esférico foi ajustado para todos os atributos (Tabela 3). Este modelo se ajusta a atributos que apresentam variações abruptas ao longo da paisagem (CAMBARDELLA et al., 1994; VIEIRA, 2000). Estas variações podem estar relacionadas aos tipos de material de origem (geologia), relevo e solos encontrados na área de estudo, evidenciando a relação entre estes fatores e a caracterização detalhada da variabilidade espacial e a definição de unidades de mapeamento.

O estoque de C apresentou forte grau de dependência espacial ( $GDE \leq 25\%$ ), enquanto o estoque de N apresentou GDE moderado ( $25\% < GDE \leq 75\%$ ) (CAMBARDELLA et al., 1994). Todos apresentaram elevados alcances, sendo que os valores foram semelhantes comparando os dados observados e preditos. Assim, pode-se inferir que tanto ERD quanto a SM são indicadas para predizer estes atributos de maneira mais similar aos dados reais de campo.

Tabela 3. Parâmetros dos variogramas esféricos de melhor ajuste aos estoques de C e de N do solo no conjunto de dados de predição (dados observados em laboratório e predições feitas por espectroscopia de reflectância difusa – ERD e suscetibilidade magnética - SM).

Conjunto de dados		C <sub>0</sub>	C <sub>0</sub> +C <sub>1</sub>	GDE (%)	A (m)	R <sup>2</sup>	SQR	Validação Cruzada	
								a	b
Estoque de C	Observado	3,02	16,50	21	1562	0,90	2,65	-0,01	1,00
	ERD	3,05	16,11	22	1548	0,90	2,15	0,01	1,00
	SM	2,70	15,28	13	1721	0,90	2,95	0,01	1,03
Estoque de N	Observado	0,01	0,047	30	1640	0,99	1,7E-05	0,00	1,00
	ERD	0,01	0,045	29	1718	0,99	2,0E-05	0,00	1,00
	SM	0,02	0,052	33	1855	0,99	3,2E-06	0,00	1,04

$N=372$ . C<sub>0</sub>- efeito pepita; C<sub>0</sub>+C<sub>1</sub>- patamar; GDE- grau de dependência espacial  $[C_0/(C_0+C_1)]*100$ ; A- alcance; R<sup>2</sup>- coeficiente de determinação do modelo ajustado; SQR- soma dos quadrados dos resíduos; a- coeficiente linear da regressão; b- coeficiente angular da regressão.

O padrão espacial dos atributos mapeados foi semelhante, como é mostrado na Figura 1. Observa-se que o mapa predito pela ERD, principalmente, foi o que mais se assemelhou ao mapa obtido com os dados observados, o que é confirmado pelos parâmetros de acurácia nos modelos obtidos (Tabela 2) e da validação cruzada (Tabela 3). Sabe-se que a determinação de atributos do solo para fins de mapeamento demanda grande quantidade de amostra e isso se torna oneroso, dificultando a realização do mapeamento detalhado de grandes áreas (BAHIA et al., 2017). Por este motivo, a calibração de modelos matemáticos utilizando ERD e SM torna-se promissor a fim de predizer estes atributos em amostras não medidas.

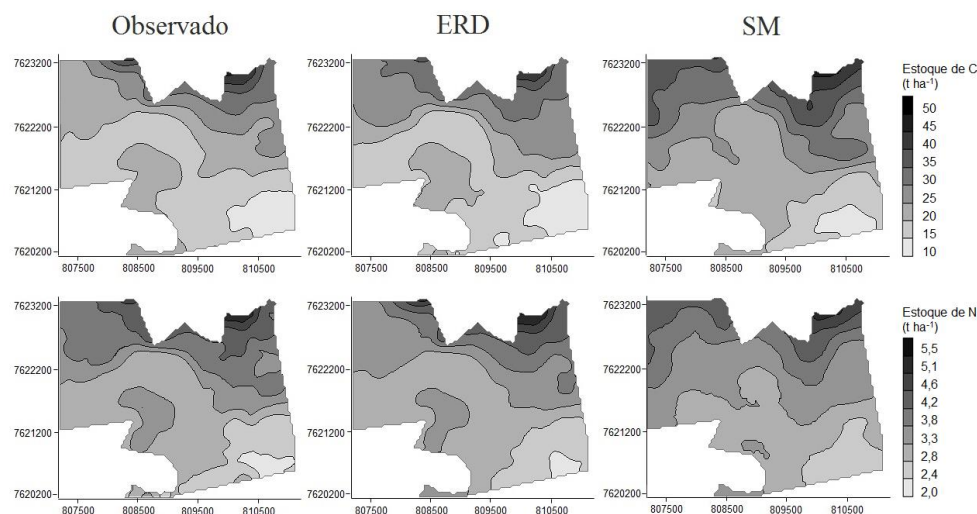


Figura 1. Mapas de distribuição espacial do estoque de C e de N do solo no conjunto de dados de predição (dados observados em laboratório e preditos por ERD e SM).

#### 4. Conclusões

A ERD e SM correlacionam positivamente com os valores dos estoques de C e N do solo, e podem ser utilizados em modelos de predição destes atributos. Os mapas interpolados com base na predição dos atributos por ERD e SM apresentam padrão de variabilidade semelhante aos mapas baseados nos dados observados, o que é confirmado pelos parâmetros de acurácia e validação cruzada ( $R^2 > 0,70$ ; menores valores de RMSE). Portanto, tanto a ERD quanto a SM têm potencial de prever os estoques de C e N em amostras desconhecidas, as quais podem ser utilizadas para a avaliação rápida e eficiente destes atributos. Isto demonstra a importância dessas ferramentas em mapeamentos de grandes áreas e com escala detalhada, o que pode auxiliar na compreensão das relações de causa e efeito entre os diversos atributos do solo e emissões de gases, visando o planejamento estratégico de uso e ocupação mais sustentáveis.

#### Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de pós-doutoramento aos três primeiros autores e ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq).

#### Referências

- BAHIA, A. S. R. S.; MARQUES JR., J.; LA SCALA, N.; CERRI, C. E. P.; CAMARGO, L. A. Prediction and mapping of soil attributes using diffuse reflectance spectroscopy and magnetic susceptibility. *Soil Science Society American Journal*, v. 81, p. 1450-1462, 2017.
- BAHIA, A. S. R. S.; MARQUES JR., J.; SIQUEIRA, D. S. Procedures using diffuse reflectance spectroscopy for estimating hematite and goethite in Oxisols of São Paulo, Brazil. *Geoderma Regional*, Amsterdam, v. 5, p. 150-156, 2015.
- BARRÓN, V.; TORRENT, J. Use of the Kubelka-Munk theory to study the influence of iron oxides on soil colour. *Journal of Soil Science*, Oxford, v. 37, n. 4, p. 499-510, 1986.
- BAYER, C. MIELNICZUK, J.; AMADO, T. J.; MARTIN-NETO, L.; FERNANDES, S. V. Organic matter storage in a sandy clay loam Acrisol affected by tillage and cropping systems in southern Brazil. *Soil and tillage research*, v. 54, n. 1-2, p. 101-109, 2000.
- CAMBARDELLA, C. A.; MOORMAN, T. B.; NOVAK, J. M.; PARKIN, T. B.; KARLEN, D. L.; TURCO, R. F.; KONOPKA, A. E. Field-scale variability of soil properties in central Iowa soils. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 58, p. 1501-1511. 1994.
- CIDIN, A. C. M. Estoque de carbono em solos brasileiros e potencial de contribuição para mitigação de emissões de gases de efeito estufa. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.
- DEARING, J. A. Environmental magnetic susceptibility. Using the Bartington MS2 system. England: British Library, 104 p., 1994.
- INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLOGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO (IPT). Mapa geomorfológico do Estado de São Paulo, 94 p., 1981.
- LANG, M.; CAI, Z.; MARY, B.; HAO, X.; CHANG, S. X. Land-use type and temperature affect gross nitrogen transformation rates in Chinese and Canadian soils. *Plant & Soil*, v. 334, p. 377-389, 2010.
- MCBRATNEY, A. B.; MINASNY, B.; VISCARRA ROSSEL, R. A. Spectral soil analysis and inference systems: A powerful combination for solving the soil data crisis. *Geoderma*, Amsterdam, v. 136, P. 272-278, 2006.
- MILLER, R. W.; GARDINER, D. T. *Soils in our environment*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 1998.
- MUÑOZ, J. D.; KRAVCHENKO, A. Soil carbon mapping using on-the-go near infrared spectroscopy, topography and aerial photographs. *Geoderma*, Amsterdam, v. 166, p. 1102-1110, 2011.
- SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAUJO FILHO, J. C.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. 5. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2018.
- VIEIRA, S. R. Geostatística em estudos de variabilidade espacial do solo. In: NOVAIS, R. F.;

- ALVAREZ, V. V. H.; SCHAEFER, G. R. (Ed.). Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 1, p. 1-54, 2000.
- VISCARRA ROSSEL, R. A. ParLeS: software for chemometric analysis of spectroscopic data. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 90, p. 72-83, 2008.
- XIE, H. T.; YANG, X. M.; DRURY, C. F.; YANG, J. Y.; ZHANG, X. D. Predicting soil organic carbon and total nitrogen using mid-and near-infrared spectra for Brookston clay loam soil in Southwestern Ontario, Canada. *Canada Journal Soil Science*, v. 91, p. 53-63. 2011.

**DESEMPENHO DO SISTEMA SOILGRIDS NA ESTIMATIVA DO CARBONO  
ORGÂNICO DO SOLO EM DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO**

A. M. S. Barbosa<sup>1,\*</sup>, J. R. S. C. Moraes<sup>2</sup>, A. C. M. Cidin<sup>1</sup>, L. G. Martorano<sup>3</sup>, S. Crestana<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo (EESC/USP), Avenida Trabalhador São Carlense, 400, CEP 13566-590, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal-SP

<sup>3</sup> Embrapa Amazônia Oriental, NAPT – Médio Amazonas. Avenida NS 01 A, 98. Bairro Diamantino, CEP 68020-640. Santarém-PA

<sup>4</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, CEP 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: [aline.m.barbosa@hotmail.com](mailto:aline.m.barbosa@hotmail.com)

**Resumo:** Em prognósticos de mudanças climáticas o desafio científico é apontar indicadores de sustentabilidade em sistemas de produção agrícola. Nesse contexto, o objetivo neste trabalho foi estimar o carbono orgânico do solo (CO) usando o sistema SoilGrids simulando diferentes sistemas de produção. Para avaliação do CO, foi comparado um conjunto de dados de solo em superfície, caracterizados por amostras de 273 perfis e dados do produto SoilGrids para todo território nacional, em diferentes condições de solo tendo a vegetação nativa (VN) como referência e diferentes sistemas de produção, tais como pastagem, Integração Lavoura Pecuária (iLP) e Integração Lavoura Pecuária Floresta (iLPF). A vegetação nativa do banco de dados de solos (superfície), apresentou em médias as maiores concentrações de CO, com aproximadamente  $66 \text{ g kg}^{-1}$ , sendo que no SoilGrids as estimativas foram de  $68 \text{ g kg}^{-1}$  de CO, porém com maiores concentrações no sistema iLP, com  $78 \text{ g kg}^{-1}$ . Os resultados estimados pelo SoilGrids em comparação com informações do conjunto de dados apresentaram médias superiores aos valores de CO nos diferentes sistemas de manejo do solo. As imagens matriciais obtidas do SoilGrids apresentaram importantes contribuições para estimativas e possíveis modelagem de previsão de CO no solo em escala nacional.

**Palavras-chave:** modelagem, big data, mudanças climáticas.

**PERFORMANCE OF THE SOILGRIDS SYSTEM IN ESTIMATING SOIL ORGANIC  
CARBON IN DIFFERENT PRODUCTION SYSTEMS**

**Abstract:** In climate change forecasting, the scientific challenge is to point out sustainability indicators in agricultural production systems. In this context, the objective of this work was to estimate soil organic carbon (CO) using the SoilGrids system simulating different production systems. To evaluate the CO, a set of soil surface data was compared, characterized by samples of 273 profiles and SoilGrids product data for the entire national territory, under different soil conditions with native vegetation (NV) as reference and different production systems, such as pasture, Livestock Crop Integration (iLP) and Forest Cattle Crop Integration (iLPF). The native vegetation (NV) of the soil database (surface) presented the highest CO concentrations in averages, with approximately  $66 \text{ g kg}^{-1}$ , and in SoilGrids the estimates were  $68 \text{ g kg}^{-1}$  of CO, but with higher concentrations in the iLP system, with  $78 \text{ g kg}^{-1}$ . The results estimated by SoilGrids in comparison with information from the data set showed averages higher than the CO values in the different soil management systems. The matrix images obtained from SoilGrids presented important contributions to estimates and possible modeling of CO prediction in the soil on a national scale.

**Keywords:** modeling, big data, climate change.

**1. Introdução**

O estoque de carbono no solo, caracteriza-se como o maior reservatório de carbono na

biosfera, atuando como um importante controlador na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico e desempenhando um importante papel no ciclo do carbono (DAVIDSON; JANSSENS, 2006; LAL, 2004). Pequenas mudanças no estoque de carbono podem alterar as concentrações de CO<sub>2</sub> na atmosfera, onde os maiores aportes em sistemas de produção podem mitigar os impactos sob condições de clima atual e, em cenários de mudanças climáticas (CHEN et al., 2018).

O Brasil é um dos principais países produtores e exportadores de *commodities* agrícolas e com a expansão agrícola aumenta a preocupação com a demanda de CO<sub>2</sub> oriundas de diferentes manejos do solo em sistema de produção. Visto que os estoques de carbono no solo apontam presença e decomposição da matéria orgânica, especialmente na camada superficial (0–30 cm) (BUI et al., 2009).

Apesar da importância dada ao solo como grande reservatório de carbono, os recursos para coletar novas amostras de solo para todo o território em muitos países são limitados, especialmente nos países em desenvolvimento, como o Brasil, permanecendo assim, uma incerteza quanto a extensão do estoque nacional e sua distribuição espacial em diferentes solos, clima, organismos, material parental e sistemas de produção.

Para superar essa limitação na disponibilidade de informações de dados, os produtos do SoilGrids visam fornecer estimativas globais para propriedades numéricas de padrão do solo como (carbono orgânico, densidade aparente, capacidade de troca catiônica (CTC), pH, frações de textura do solo e fragmentos grossos) em sete profundidades padrão (0, 5, 15, 30, 60, 100 e 200 cm) em escala de 250 m (HENGL et al., 2017). Sendo importante avaliar a acurácia e precisão dessas informações para possível validação do seu uso em escala nacional.

Liang et al. (2019) descreveram a modelagem espacial tridimensional de mapas de carbono orgânico do (CO) em diferentes profundidades para China, a partir do projeto GlobalSoilMap (GSM), utilizando fontes do SoilGrids, XGBoost e HWSO. Esses autores observaram a importância das variáveis do produto do SoilGrids para modelagem de CO em escala nacional. Concluindo que o conteúdo de CO das terras cultiváveis foi inferior ao das florestas e pastagens, com intervalo do coeficiente de determinação para as diferentes profundidades variando de 0,35 a 0,02.

Na literatura, inúmeras técnicas como floresta aleatória; Regressão linear múltipla; rede neural artificial e outros foram aplicadas nas estimativas de carbono usando diferentes variáveis de entrada. Nota-se que existe potencial de uso dos produtos do SoilGrids como modelos preditivos de carbono orgânico do solo. Portanto, objetivou-se neste trabalho avaliar o desempenho do sistema SoilGrids em estimar o carbono orgânico do solo testando diferentes sistemas de produção.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Descrição dos dados de superfície**

Para avaliação do carbono orgânico do solo (CO) foi obtido um conjunto de dados de solo em superfície de 273 perfis, derivados de um banco de informações de solos brasileiros (CIDIN, 2016). Os perfis de solo foram avaliados na camada de 0-30 cm, para diversos locais e sistemas de manejo (Figura 1).

### **2.2. Descrição dos dados SoilGrids**

Obteve-se dados do produto SoilGrids (HENGL et al., 2017) para todo território nacional, extraindo-se as informações de CO nos mesmos pontos de perfis de solo do conjunto de dados. O SoilGrids fornece estimativas para diferentes propriedades do solo, em sete níveis de profundidade (0, 5, 15, 30, 60, 100 e 200 cm) com resolução espacial de 250 m. Foram obtidas imagens matriciais nas profundidades de 0-5-15 e 30 cm, aplicando-se um somatório nas imagens matriciais para obtenção de perfis na camada de 0-30 cm.

Os dados de CO do conjunto de dados foram comparados com informações do produto SoilGrids em diferentes sistemas de manejo do solo, sendo, vegetação nativa (VN), pastagem, Integração Lavoura pecuária (iLP) e Integração Lavoura Pecuária Floresta (iLPF).

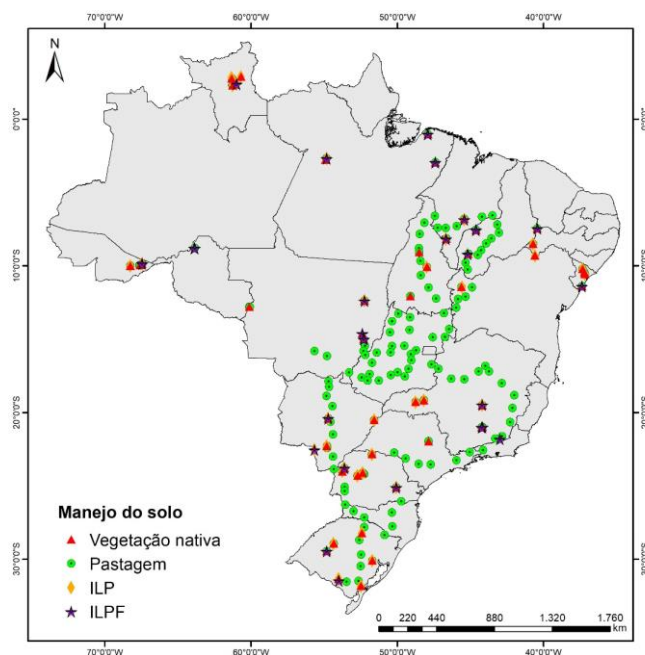


Figura 1. Mapa de distribuição espacial dos dados de carbono orgânico do solo, disponível em diferentes manejos.

### 2.3. Avaliação estatística

Para avaliar a performance nas estimativas de CO do produto SoilGrids, em comparação as informações do conjunto de dados em superfície, foi obtido o ajuste linear por meio do Coeficiente de determinação ( $R^2$ ), Erro sistemático (Es) e Erro porcentual absoluto médio (MAPE) equação (1, 2 e 3) respectivamente.

$$R^2 = \frac{SQR}{SQT} = \frac{\sum_{i=1}^N (Yest_i - \bar{Y})^2}{\sum_{i=1}^N (Yobs_i - \bar{Y})^2} \quad (1)$$

$$Es = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (Yobs_i - \bar{Y})^2}{N}} \quad (2)$$

$$MAPE = \frac{\sum_{i=1}^N \left( \left| \frac{Yest_i - Yobs_i}{Yobs_i} \right| \times 100 \right)}{N} \quad (3)$$

Sendo: Yest: variáveis estimadas; Yobs; variáveis observadas; Y: média das variáveis observadas; N; número de variáveis.

### 3. Resultados e Discussão

Como a vegetação nativa (VN) foi a referência para o conjunto de dados em superfície, notam-se as maiores concentrações de CO, com aproximadamente  $66 \text{ g kg}^{-1}$ . Ao simular no SoilGrids para o sistema iLP os valores foram de  $68 \text{ g kg}^{-1}$  de CO, porém com maiores concentrações no sistema iLP, com  $78 \text{ g kg}^{-1}$  (Figura 2).

Os dados do produto SoilGrids em comparação com informações do conjunto de dados superestimou em média os valores de CO nos diferentes sistemas de manejo do solo (Figura 2). Contudo, observa-se que os valores máximos de CO são obtidos nos dados de superfície, com valores que chegam a quase  $250 \text{ g kg}^{-1}$  no sistema de pastagem.

O SoilGrids foi mais conservador na variação de CO nos diferentes sistemas de manejo, apresentando menores desvios padrões, principalmente nos sistemas de vegetação nativa, pastagem e iLPF, com pequena diferença de amplitude entre seus valores máximos.

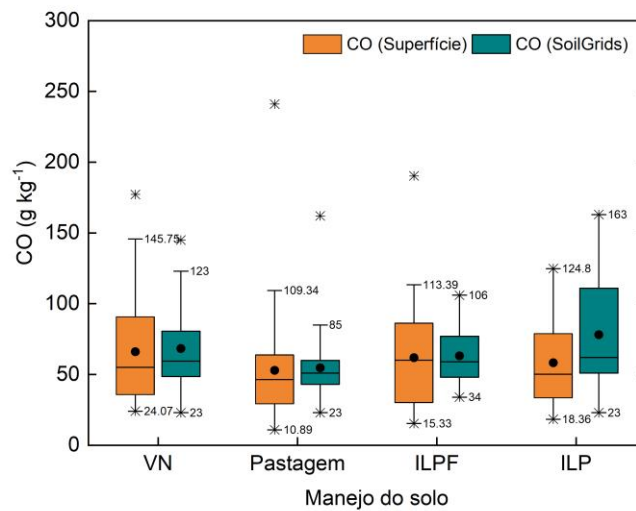


Figura 2. Variação do CO ( $\text{g kg}^{-1}$ ) simulado usando diferentes manejo do solo e dados de VN (Vegetação Nativa), Pastagem, iLPF (Interação Lavoura Pecuária Floresta), iLP (Integração Lavoura pecuária).

Entre os sistemas de manejo do solo, a pastagem apresentou melhor desempenho na estimativa de CO, com medidas de precisão ( $R^2$ ) igual a 0,51, acurácia (MAPE) de 45,49 e tendência (Es) de 19,61. De forma inversa, o sistema de manejo iLPF obteve os menores desempenhos, com  $R^2$  igual a 0,10, MAPE de 73,86 e Es de 35,77 (Figura 3). Liang et al. (2019), avaliando a modelagem espacial de mapas de CO na China, preditos de diferentes bases, XGboost, SoilGrids e HWSD, também observaram superestimativas nas estimativas pelo SoilGrids.

Mulder et al. (2016) reconheceram que, para muitas áreas ao redor do mundo, as estimativas das propriedades do solo geradas localmente, provavelmente seriam significativamente mais precisas do que as estimativas do SoilGrids, pois os modelos locais podem empregar dados de covariáveis adequados para explicar especificamente a variabilidade do solo sob condições locais, como condições climáticas, cobertura e manejo do solo e outros.

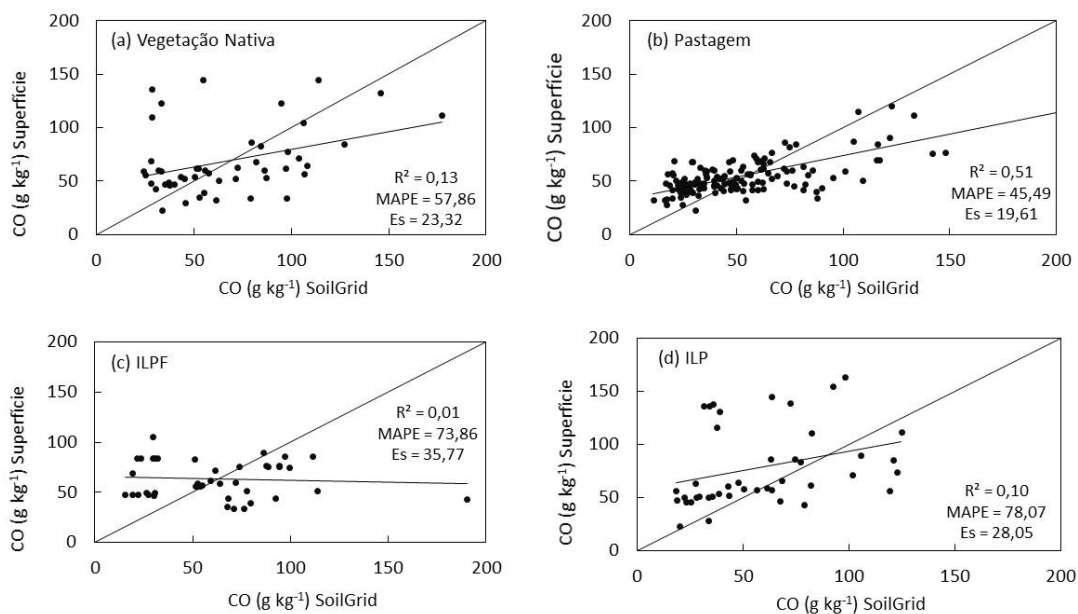


Figura 3. Desempenho do modelo SoilGrids na estimativa do CO ( $\text{g kg}^{-1}$ ) nos diferentes manejos. a) Vegetação Nativa, b) Pastagem, c) ILPF, d) ILP.



#### 4. Conclusões

O desempenho da estimativa do SoilGrids diminuiu com o uso de sistemas integrados no manejo do solo como o iLPF e iLP. As imagens matriciais obtidas do SoilGrids apresentaram importantes contribuições para estimativas e possíveis modelagens de previsão de CO no solo em escala nacional.

O SoilGrids fornece informações importantes que podem subsidiar na formulação de políticas em termos de gerenciamento de terras e produção de alimentos.

#### Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro autor. À Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico à pesquisa.

#### Referências

- BUI, E.; HENDERSON, B.; VIERGEVER, K. Using knowledge discovery with data mining from the Australian Soil Resource Information System database to inform soil carbon mapping in Australia. *Glob. Biogeochem. Cycles* 23 (4) (n/a-n/a). 2009.
- CIDIN, A.C.M. Estoque de carbono em solos brasileiros e potencial de contribuição de mitigação de emissões de gases de efeito estufa. 2016. 76 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Ambiente) - Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2016.
- CHEN, S.; MARTIN, M.P.; SABY, N.P.; WALTER, C.; ANGERS, D.A.; ARROUAYS, D. Fine resolution map of top-and subsoil carbon sequestration potential in France. *Sci. Total Environ.* 630, 389–400. 2018a.
- DAVIDSON, E.A.; JANSSENS, I.A. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440 (7081), 165–173. 2006.
- GOMES, L. C.; FARIA, A. M.; SOUZA, E.; VELOSO, G. V.; SCHAEFER, C. E. G.R.; FERNANDES FILHO, E. I. Modelling and mapping soil organic carbon stocks in Brazil. *Geoderma*. 2019.
- HENGL, T.; DE JESUS, J.M.; HEUVELINK, G.B.M.; GONZALEZ, M.R.; KILIBARDA, M.; BLAGOTIĆ, A., SHANGGUAN, W.; WRIGHT, M.N.; GENG, X.; BAUER-MARSCHALLINGER, B.; GUEVARA, M.A.; VARGAS, R.; MACMILLAN, R.A.; BATJES, N.H.; LEENAARS, J.G.B.; RIBEIRO, E.; WHEELER, I.; MANTEL, S.; KEMPEN, B. Soilgrids250m: global gridded soil information based on machine learning. *PLoS One* 122, e0169748. 2017.
- LAL, R.. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* 123 (1–2), 1–22. 2004.
- MULDER, V.; LACOSTE, M.; DE FORGES, A.R.; ARROUAYS, D. GlobalSoilMap France: highresolution spatial modelling the soils of France up to two meter depth. *Sci. Total Environ.* 573, 1352–1369. 2016.
- ZONGZHENG, LIANG.; SONGCHAO, CHEN.; YUANYUAN, YANG.; YUE, ZHOU.; ZHOU, SHI. High-resolution three-dimensional mapping of soil organic carbon in China: Effects of SoilGrids products on national modeling. *Science of the Total Environment* 685. 480–489. 2019.

**PREDIÇÃO DE FÓSFORO ADSORVIDO UTILIZANDO A SUSCETIBILIDADE  
MAGNÉTICA EM SOLOS SOB CULTIVO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Katharine Viana Batista<sup>1,\*</sup>, Luciane Gomes da Silva<sup>1</sup>, Aline Ferreira Moreno<sup>1</sup>, Valter Barbosa dos Santos<sup>1</sup>, Gustavo André de Araújo Santos<sup>1</sup>, Gener Tadeu Pereira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unesp/Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane Castellane S/N, 14884-900, Jaboticabal, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: [ktbatista@hotmail.com](mailto:ktbatista@hotmail.com)

**Resumo:** O fósforo é considerado um nutriente que limita o desenvolvimento da cultura de cana-de-açúcar em solos brasileiros. Além disso, apresenta grande variabilidade espacial devido aos atributos que influenciam sua adsorção ao solo. O objetivo do trabalho foi mapear o fósforo adsorvido ( $P_{ads}$ ) com o auxílio da susceptibilidade magnética (SM) e definir a proporção amostral para a caracterização da dependência espacial do  $P_{ads}$ . Foram coletadas 371 amostras na profundidade de 0-0,25 m, totalizando 870 ha. Em cada ponto amostral determinou-se a SM e o  $P_{ads}$ . Os dados foram analisados a partir da estatística descritiva e da geoestatística. A co-krigagem foi utilizada para a confecção dos mapas de  $P_{ads}$  e SM, definindo as quatorze proporções amostrais. A acurácia das estimativas foi obtida por meio da validação externa e a Raiz Quadrada do Erro Médio (RMSE). A partir disso, conclui-se que o  $P_{ads}$  apresenta dependência espacial com a SM, indicando seu uso no mapeamento e na identificação de áreas com diferentes potenciais de adsorção de fósforo, e a técnica de interpolação com co-krigagem utilizando a SM funciona até a proporção amostral 6 pontos por hectare, ou seja, para cada ponto de  $P_{ads}$  pode-se utilizar até 5 pontos de SM.

**Palavras-chave:** Geoestatística, Krigagem ordinária, Proporção amostral.

**ADSORVED PHOSPHORUS ESTIMATION USING MAGNETIC SUSCEPTIBILITY IN  
SUGARCANE CULTIVATION AREAS**

**Abstract:** Phosphorus is considered one of the nutrients that limit the development of sugarcane crop in Brazilian soils. Moreover, it presents great spatial variability due to the attributes that influence its adsorption to the soil. The objective of this work was to map the adsorbed phosphorus ( $P_{ads}$ ) with the aid of magnetic susceptibility (SM) and to define the sample proportion for the characterization of  $P_{ads}$  spatial dependence. 371 samples were collected at a depth of 0-0.25 m, with the area of 870 ha. At each sampling point the susceptibility SM and the  $P_{ads}$  were determined. Data were analyzed using descriptive statistics and geostatistics. Co-kriging was used to make the  $P_{ads}$  and SM maps, defining the fourteen sample proportions. The accuracy of the estimates was obtained through external validation and the Square Root Mean Error (RMSE). From this, it is concluded that the  $P_{ads}$  has spatial dependence with MS, indicating its use in mapping and identification of areas with different phosphorus adsorption potentials, and the co-kriging interpolation technique using MS works until Sample rate 6 points per hectare, that is, for each point of  $P_{ads}$  up to 5 points of SM can be used.

**Keywords:** Geostatistics, Ordinary kriging, Sample proportion.

**1. Introdução**

O fósforo é um macronutriente decisivo no desenvolvimento das plantas. Limitações na disponibilidade de fósforo (P) no início da estação de crescimento (ciclo vegetativo) podem resultar em restrições ao seu desenvolvimento, e podem não se recuperar mais tarde, mesmo aumentando o suprimento de P para níveis adequados. (KRUSE et al., 2015). Os solos brasileiros são no geral pobres em fósforos e isso é devido ao processo de dessorção ao solo que o fósforo apresenta, e isso por meio da dessorção e precipitação (GARCIA et al., 2011). O baixo conteúdo

de (P) nos solos tropicais é uma característica atribuída a escassez deste elemento no material de origem bem como aos avançados processos de pedogênese desses solos (FINK et al., 2016). Vários estudos ressaltam que solos de textura arenosa apresentam baixo potencial de fixação de P, já que a areia é praticamente desprovida de carga de superfície. A forte retenção de P em solos argilosos deve-se a maior área de superfície específica e a quantidade de sítios adsorptivos (SIMÕES NETO et al., 2009). Diante disso, o mecanismo de adsorção de P é regido por processos físico-químicos, de interações eletrostáticas (GOMES et al., 2017). A caracterização da variabilidade espacial do P pelos métodos convencionais torna-se inviável. Entre as dificuldades destaca-se o grande número de amostras necessária, mão-de-obra e análises laboratoriais, e ainda a morosidade dos resultados analíticos. a relação custo-benefício- tempo impossibilita o conhecimento do padrão espacial de P pelos métodos clássicos. Uma alternativa tem sido a adoção de métodos indiretos, como por exemplo a utilização da suscetibilidade magnética (SM) e métodos estatísticos, como a geoestatística (SIQUEIRA et al., 2010; PELUCO et al., 2013; GOMES et al., 2017). Modelagem matemática para estimar atributos de difícil obtenção a partir de dados de fácil obtenção são denominadas de pedotransferência (NASCIMENTO et al., 2010b). Neste propósito, pode-se utilizar a SM para avaliar determinados atributos do solo, de maneira simples, sem impacto ambiental, e de custo considerado baixo, além de ser um procedimento rápido de ser realizado (BAHIA et al., 2015). Essa técnica é utilizada como indicador geofísico, no intuito de mapear áreas de gerenciamento distintas e estimar diferentes propriedades do solo (CAMARGO et al., 2014, 2016). Considerando que a SM está relacionada aos minerais que adsorvem fósforo, esta pode ser utilizada como uma variável auxiliar na precisão de mapas (PELUCO et al., 2015; MATIAS et al., 2015). Portanto a hipótese do presente estudo é que a SM pode ser utilizada para prever o  $P_{ads}$  em solo sob cultivo de cana-de-açúcar, tendo como objetivo do estudo mapear o  $P_{ads}$  com o auxílio da SM do solo.

## 2. Material e Métodos

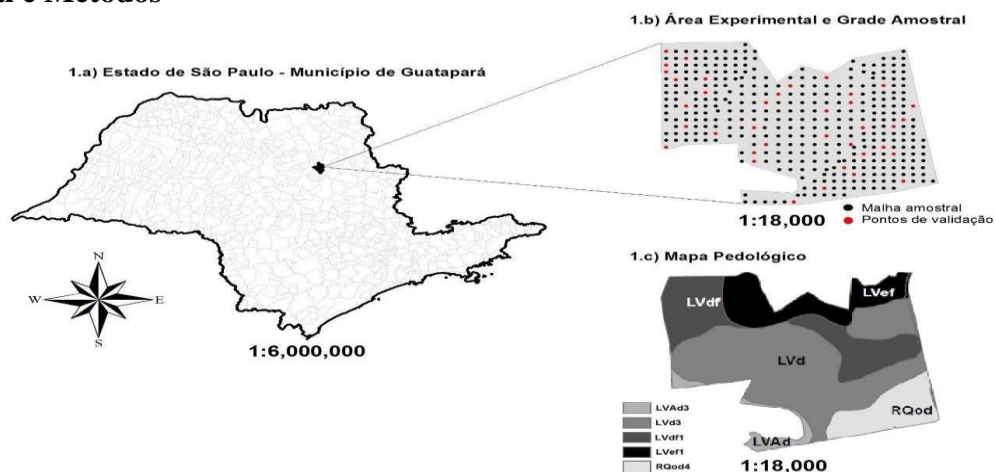


Figura 1. Localização da área de estudo(1a); Malha amostral(1b); Mapa pedológico(1c)

A pesquisa foi realizada partir de um banco de dados que fazem parte do banco de dados do grupo de pesquisa Caracterização do Solo para fins de manejo Específico (CSME). Na área experimental foi instalada uma malha de amostragem regular contendo 371 pontos com separação entre as amostras de 145 m a 174 m, abrangendo uma área total de aproximadamente 870 ha. A proporção amostral inicial foi de 1 ponto a cada 2,6 ha.

### 2.1 Análises Laboratoriais

A SM foi quantificada em aparelho Bartington MS2, acoplado ao sensor Bartington MS2B seguindo metodologia descrita por (DEARING, 1994) em baixa frequência (0,47 kHz). Para determinar os valores de  $P_{ads}$  utilizou-se a metodologia descrita por (FASSBENDER e IGUE 1967).

## 2.2 Análises geoestatísticas

As análises geoestatísticas foram realizadas nos programas estatísticos GS+ 10 (version 9.0; Gamma Software Design, 2008) Surfer 9 version 9.0; Golden Software, 2009) e R software (R development Core Team, 2018). Os dados foram submetidos à estatística descritiva (média, mediana, erro padrão, coeficiente de variação, mínimo, máximo, coeficiente de assimetria e curtose). O CV foi classificado com base no critério de Warrick e Nielsen (1980). A dependência espacial do  $P_{ads}$  e da SM foram estimadas por meio dos variogramas experimentais (SOARES, 2006). A krigagem ordinária foi utilizada para a obtenção dos mapas de padrões espaciais do Fósforo adsorvido (ISAAKS e SRIVASTAVA, 1989).

## 3. Resultados e Discussão

As estatísticas descritivas referentes as 14 proporções amostrais avaliadas (Tabela 1) apresentaram valores de CV alto segundo Warrick e Nielsen (1980) é considerado alta variabilidade espacial ( $CV > 24\%$ ), portanto as proporções amostrais com o CV mais alto foram: a proporção amostral 4ha com  $CV= 34,49\%$ , 5ha com  $CV=33,91\%$  e 7ha com  $CV=33,84\%$ . Essa alta variabilidade da SM reflete a grande sensibilidade deste atributo para indicar processos pedogenéticos.

Tabela 1. Estatística descritiva para o Fósforo adsorvido ( $P_{ads}$ ) nas densidades amostrais avaliadas.

Variáveis	N	Média	Mediana	EP	Min	Max	CV	Ass	Curt
2,6	308	506,67	1384,0	9,49	101,49	931,07	32,85	0,34	0,47
3	266	504,48	469,3	10,41	101,49	931,07	33,66	0,33	-0,48
4	201	495,66	463,2	12,06	101,49	931,07	34,49	0,32	-0,38
5	162	489,67	462,8	11,71	106,91	931,07	33,91	0,44	-0,26
6	136	499,87	462,9	13,11	106,91	931,07	33,37	0,43	-0,25
7	118	490,88	462,2	14,24	106,91	931,07	33,84	0,45	-0,13
8	103	485,01	455,6	15,62	106,91	918,29	33,76	0,40	-0,16
9	91	482,96	454,0	16,99	158,23	918,29	33,54	0,46	-0,31
10	82	495,53	459,2	17,49	162,14	918,29	31,96	0,48	-0,33
11	75	496,62	464,7	18,80	162,14	918,29	32,78	0,44	-0,44
12	69	498,40	464,7	19,84	162,14	918,29	33,04	0,46	-0,44
13	64	499,11	465,8	20,30	162,14	918,29	32,54	0,48	-0,43
14	59	500,05	467,0	22,77	162,14	918,29	33,43	0,46	-0,54
15	55	493,75	464,7	22,35	162,14	918,29	33,54	0,50	-0,44

*EP=erro padrão da média; CV= coeficiente de variação (%); Min = mínimo; Max = máximo; assi= coeficiente de assimetria; curt=curtose*

Foram ajustados ao modelo esférico os variogramas simples da SM e  $P_{ads}$  para a proporção amostral 2,6ha (Figura 2), o mesmo reflete uma pequena variação na pequena escala da variável estudada, corroborando os resultados de (CAMARGO et al. 2014; PELUCO et al.2015). Marques Junior et al. (2014) também verificaram ajustes dos variogramas de SM ao modelo esférico.

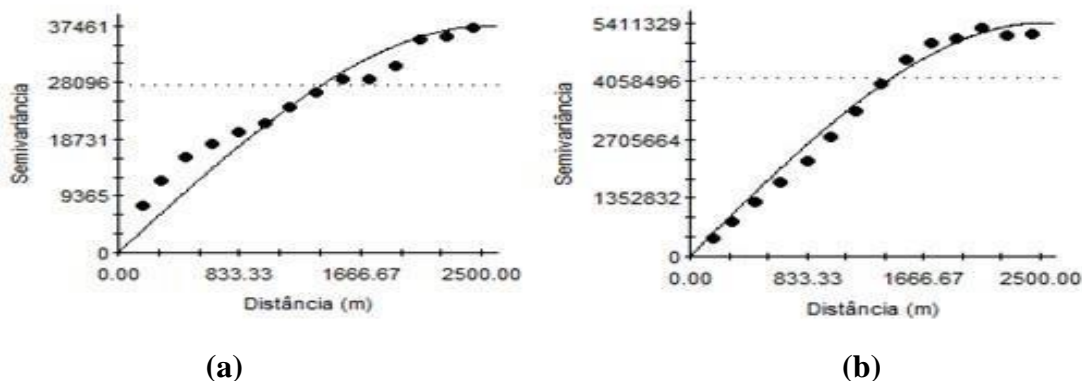


Figura 2. Variograma experimental do Fósforo adsorvido- $P_{ads}$  (a) e suscetibilidade magnética-SM (b).

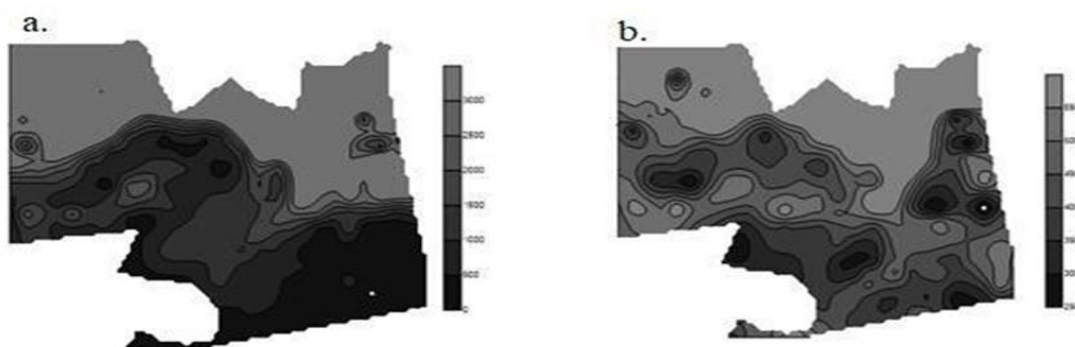


Figura 3. Mapas de padrão espacial da suscetibilidade magnética  $10^{-8}m^3kg^{-1}$  (a) e Fósforo adsorvido  $mg\ dm^3$  (b) na proporção amostral 2.6ha

Os mapas de padrão espacial foram obtidos a partir dos variogramas cruzados estimados para as proporções amostrais avaliadas (Figura 3). O que pode ser confirmado pelo sentido das isolinhas observadas nas classes dessa variabilidade existente (LEÃO et al., 2011).

#### 4. Conclusões

O fósforo adsorvido apresenta dependência espacial com suscetibilidade magnética, indicando que é útil para auxiliar o mapeamento e identificação de áreas com diferentes potenciais de adsorção de fósforo.

#### Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao grupo de pesquisa de Caracterização do solo para fins de manejo específico (CSME)

#### Referências

- BAHIA, A.S.R.S.; MARQUES JÚNIOR, J.; SIQUEIRA, D.S. Procedures using diffuse reflectance spectroscopy for estimating hematite and goethite in Oxisols of São Paulo, Brazil. *Geoderma regional* 5:150-156. 2015b.
- CAMARGO, L.A.; MARQUES JÚNIOR, J.; PEREIRA, G.T.; BAHIA, A.S.R.S. Clay mineralogy and magnetic susceptibility of Oxisols in geomorphic surfaces. *Scientia Agricola* 3(71): 244-256. 2014.
- CAMARGO, L.A.; MARQUES JÚNIOR, J.; PEREIRA, G.; ALLEONI, L.R.F.; BAHIA, A.S.R.S.; TEIXEIRA, D.B. Pedotransfer functions to assess adsorbed phosphate using iron oxide content and magnetic susceptibility in an Oxisol. *Soil Use and Management* 32(2):172–

82. 2016.

- KRUSE, J.; ABRAHAM, M.; AMELUNG, W.; BAUM, C.; BOL, R.; KÜHN, O.; LEWANDOWSKI, H.; NIEDERBERGER, J.; OELMANN, Y.; RÜGER, C.; SANTNER, J.; SIEBERS, M.; SIEBERS, N.; SPOHN, M.; VESTERGREN, J.; VOGTS, A.; LEINWEBER, P. Innovative methods in soil phosphorus research: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 1:43-88.2015.
- GARCIA, R.A.; MERLIN, A.; TOLEDO, M.Z.; FERNANDES, D. M.; CRUSCIOL, C. A. C.; BÜLL, L. T. Desenvolvimento da aveia branca e disponibilidade de fósforo em razão da aplicação de silicato de potássio. *Revista Ceres*, v.58, p.831-837, 2011.
- FINK, J.R.; INDA, V.A.; TIECHER, T.; BARRÓN, V. Iron oxides and organic matter on soil phosphorus availability. *Ciência e Agrotecnologia* 40: 369-379. 2016.
- Gamma Design Software. GS+ Geostatistics for the Environmental Sciences, Version 9.0. Gamma Design Software, Plainwell, MI, USA. 2008.
- Golden Software. Surfer for Windows: Surface Mapping System; Version 9.11.947. Golden Software, New York, NY, USA.2009.
- GOMES, R.P.; CAMPOS, M.C.C; RODRIGUES, M.D.; PINHEIRO, D.M.; CUNHA, J.M; FRANCISCON, U.; SILVA, L.S.; OLIVEIRA, I.A; BRITO, W.B.M.Spatial Variability of Aggregates and Organic Carbon Under Three Different Uses of Indian Black Earth in Southern Amazonas. *Bioscience Journal* 33: 1513-1522.2017.
- Isaaks, E.H. & Srivastava, R.M..An introduction to applied geoestatistics. New York, **Oxford University Press** 561p.1989.
- SIMÕES NETO , DE OLIVEIRA, A.C; FREIRE, F.J.; FREIRE, M.B.G.; DO NASCIMENTO, C.W.A.; DA ROCHA, A.T. Extração de fósforo em solos cultivados com cana-deaçúcar e suas relações com a capacidade tampão. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 13:840-848.2009.
- SIQUEIRA, D.S.; MARQUES JÚNIOR, JR.; MATIAS, S.S.R.; BARRÓN, V.; TORRENT, J.; BAFFA, O; OLIVEIRA, L.C.Correlation of properties of Brazilian Haplustalfs with magnetic susceptibility measurements. *Soil Use and Management* 26: 425-431. 2010.
- NASCIMENTO, G.B.; ANJOS, L.H.C.; PEREIRA, M.G.; FONTANA, A.; SANTOS, H.G. Funções de pedotransferência do conteúdo de água em Latossolos Amarelos e Argissolos Amarelos. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* (4) 5: 560-569. 2010.
- PELUCO, R.G.; MARQUES JÚNIOR, JR.; SIQUEIRA, D.S.; PEREIRA, G.T.; BARBOSA, R.S.; TEIXEIRA, D.D.B.Mapeamento do fósforo adsorvido por meio da cor e da suscetibilidade magnética do solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília 50: 259-266.2015.
- PELUCO, R.G.; MARQUES JÚNIOR, JR.; SIQUEIRA, D.S.; CORTEZ, L.A. Magnetic susceptibility in the prediction of soil attributes in two sugarcane harvesting management systems. *Engenharia Agrícola*. 33: 1134-1143.2013.
- R Development Core Team. R Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.2018.
- Warrick, A.W. & Nielsen, D.R.Spatial variability of soil physical properties in the field. In: HILLEL, D., ed. Applications of soil physics. New York, Academic Press 350.1980.

**MEDIDA DE COMPRIMENTO DE SARCÔMERO DE CARNE BOVINA POR  
MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA.**

Rubens Bernardes Filho<sup>1,\*</sup>, Victor Seabra<sup>2</sup>, Lucimara Aparecida Forato<sup>1</sup>, Paulo Orlandi Lasso<sup>1</sup>,  
Fabiano Okumura<sup>3</sup>, Renata Tiekko Nassu<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua Quinze de novembro, 1452, CEP 13561-206, São Carlos, SP,*

<sup>2</sup> *Instituto de Química de São Carlos - USP*

<sup>3</sup> *Embrapa Pecuária Sudeste, Rodovia Washington Luiz, Km 234 s/nº, Fazenda Canchim, Caixa Postal: 339, CEP 13560-970, São Carlos*

\* *Autor correspondente, e-mail: rubens.bernardes@embrapa.br*

**Resumo:** O sarcômero é a unidade contrátil do músculo e tem papel importante na qualidade da carne. O seu comprimento pode sofrer variação durante os processos envolvidos na produção da carne bovina, principalmente no manejo pós abate, durante o resfriamento, onde pode ocorrer o fenômeno do "encurtamento pelo frio", associado à perda de qualidade da carne. A microscopia de força atômica (MFA) é uma técnica que permite obter a topografia de superfícies de amostras em escalas micrométricas e nanométricas com precisão e detalhes, que não são possíveis de se obter por microscopia eletrônica ou óptica. Neste trabalho é apresentada uma metodologia simples de preparação de amostras de sarcômeros para medida de seu comprimento utilizando microscopia de força atômica. Os sarcômeros obtidos das amostras de carne, coletadas após o resfriamento das carcaças, apresentaram comprimento médio de 1,76 µm, mensurados por esta técnica.

**Palavras-chave:** Sarcômero, Microscopia de Força Atômica, Carne Bovina, Comprimento

**MEASUREMENT OF BEEF SARCOMERE LENGTH USING ATOMIC FORCE  
MICROSCOPY**

**Abstract:** The sarcomere is the contractile unit of the muscle and plays an important role on meat quality. Its length may vary during processes involved in beef production, mainly after slaughtering, where the "cold shortening" phenomenon may occur, associated with loss of meat quality. Atomic force microscopy is a technique that allows to obtain surface topography samples micrometer and nanometer scales accurately and details that are not possible to obtain by electron or optical microscopy. This study presents a simple method of preparing samples for sarcomere length measurement using atomic force microscopy. The sarcomeres obtained from beef after cooling of carcasses had an average length of 1.76 µm, measured by this technique.

**Keywords:** Sarcomere, Atomic Force Microscopy, Beef, Length.

**1. Introdução**

Existem vários fatores que influenciam diretamente a qualidade da carne bovina que chega ao consumidor, e, dentre eles podem ser citados: idade, peso, sexo, grupo genético, e manejo pré e pós abate. Uma informação importante para análises ou para acompanhamento desses processos é a medida do comprimento do sarcômero que é a unidade contrátil do músculo, responsável pela contração e expansão muscular. Quando ele sofre encurtamento há a tendência da carne tornar-se mais rígida (ERTBJERG & POULANNE, 2017; HOPKINS & THOMPSON, 2001). Entretanto, além do comprimento, outras dimensões podem variar e é necessário considerar outras variáveis envolvidas no processo. Conhecer tanto as dimensões quanto a morfologia dos sarcômeros podem auxiliar no melhor controle nas etapas de produção da carne.

O comprimento do sarcômero é usualmente mensurado pelas técnicas de microscopia por contraste de fase ou difração de raios laser, mas podem ser sujeitas a erros e não fornecem dados de

outras dimensões, além do comprimento. A microscopia de força atômica (MFA) é uma das técnicas de microscopia de varredura de *probe* que permite obter imagens topográficas de amostras não condutoras de eletricidade (BERNARDES-FILHO & MATTOSO, 2005). Ela consiste no monitoramento da movimentação de um *cantilever*, que possui dimensões microscópicas, sobre uma amostra monitorando a força que ele exerce sobre a superfície desta. Portanto, a MFA seria uma alternativa para mensuração do comprimento do sarcômero. Este trabalho teve como objetivo apresentar uma metodologia de preparação de amostra e mensuração do comprimento do sarcômero pela técnica da MFA.

## 2. Materiais e Métodos

As amostras de fibras musculares foram obtidas a partir de pedaço do músculo *longissimus*, de animais da raça Nelore. Uma amostra de carne pesando 0,3g foi colocada em um tubo, de vidro de 50ml, contendo 5mL de água destilada e homogeneizada em um ultra turrax, modelo T10, marca IKA, por 30s. Em seguida, uma peneira com furos de 0,5mm de diâmetro foi utilizada para retirada de aglomerados e fibras longas. À amostra resultante foi adicionada água destilada até se obter o volume de 30mL. O líquido foi homogeneizado por agitação. O material foi depositado com micropipeta sobre placas de mica, com dimensão de 1 x 1cm, recém clivadas e colocado para secar em dessecador por 3 horas. Após este período de tempo, a lâmina de mica foi colada sobre lamina de vidro de microscopia óptica, para obtenção das imagens.

O equipamento de MFA utilizado neste estudo foi um Nanosuf modelo Flex, com sistema de varredura de 100 $\mu$ m e capacidade de compensação de eixo Z de 10 $\mu$ m. O modo de aquisição foi o vibracional (*tapping mode*). Os cantileveres utilizados foram do modelo TAP 150-G, com frequência de ressonância típica de 130KHz, fabricados pela Budget Sensors. O MFA foi montado sobre um microscópio invertido Zeiss modelo Axiovert 1.

As imagens de MFA foram obtidas em campos de varredura de 20 $\mu$ m com 256 linhas e frequência de varredura de 1,2Hz. Os sarcômeros foram localizados na lâmina de mica com o auxílio do microscópio invertido.

As dimensões dos sarcômeros foram medidas a partir das imagens com auxílio do *software* livre Gwyddion versão 2.53 (<https://gwyddion.net>). Este *software* de processamento permite obtenção de várias informações das imagens, entre elas: rugosidade total e parcial, extração de perfis, medidas de dimensões nos eixos x, y e z, processamento 3D com variação de posição de iluminação e representação da superfícies com várias faixas de tonalidade.

## 3. Resultados e Discussão

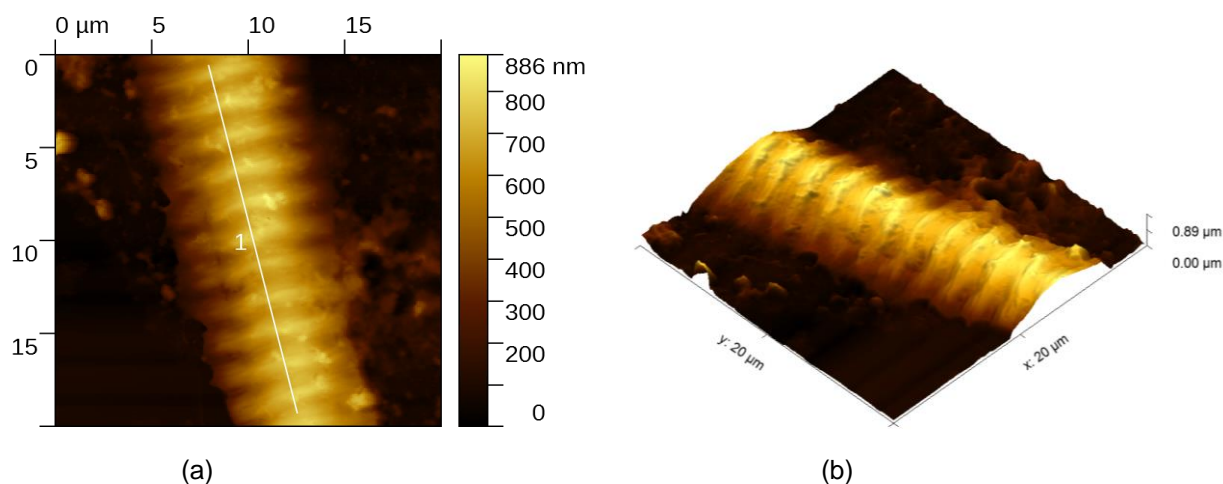


Figura 1. Imagem de sarcômero obtida com microscopia de força atômica; (a) imagem bidimensional com escala lateral de alturas; (b) imagem tridimensional;). A cor das imagens decorre da escolha da paleta de cores “gold” no software Gwyddion.



A figura 1 apresenta imagens de MFA de uma fibra de carne, em que é possível identificar a estrutura anelar repetitiva dos sarcômeros que a compõem. As partes mais escuras das imagens representam as superfícies da mica; as partes mais claras representam as partes mais altas que evidenciam a fibra muscular.

O comprimento do sarcômero foi obtido medindo, na linha traçada ao longo da fibra muscular (figura 1a), a separação entre as regiões mais altas da fibra muscular, como ilustrado na figura 2, foi utilizada para obter as medidas.

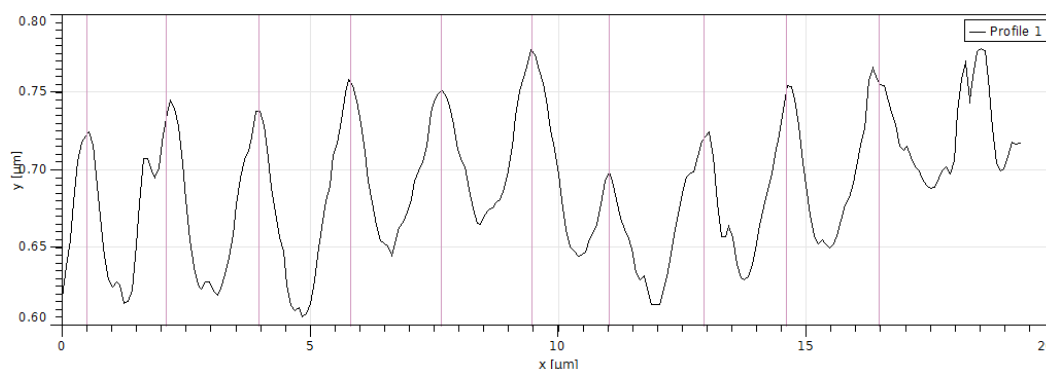


Figura 2. Perfil do sarcômero obtidos pela linha 1 da imagem da figura 1a.

Foram obtidas imagens de 4 fibras distintas em que foi possível obter o comprimento médio (no sentido da fibra) de 27 sarcômeros. O valor médio medido para o comprimento foi de  $1,76 \pm 0,11 \mu\text{m}$ .

#### 4. Conclusões

As concentrações de material e solvente (água) se mostraram adequadas para obtenção de fibras separadas na superfície da mica, ou seja, sem a presença de aglomerados.

O uso do modo vibracional para obtenção das imagens de MFA não causou danos às fibras. Durante as varreduras não foram observados deslocamentos ou danos nas fibras causadas pelas varreduras realizadas. Desta forma a metodologia aqui apresentada se mostrou adequada para fixação das fibras na superfície de suporte.

A qualidade dos dados obtidos permitiu obter a dimensão dos sarcômeros com precisão, pois o desvio obtido foi inferior a 7%.

A metodologia aqui apresentada se mostrou simples e eficiente para medição das dimensões de sarcômeros de fibras musculares, o que é útil para análise de qualidade de carnes.

#### Agradecimentos

Embrapa, Finep.

#### Referências:

- BERNARDES-FILHO, R.; MATTOSO, L.H.C. Microscopia de força atômica. In: Sebastião Vicente Canevarolo Junior. (Org.). Técnicas de Caracterização de Polímeros. São Paulo: Artliber Editora, 2005.
- HOPKINS, D.L.; THOMPSON, J.M. The relationship between tenderness, proteolysis, muscle contraction and dissociation os actomyosin, **Meat Science**, v. 57, e. 1, p. 1-12, 2001.
- ERTBJERG, P.; POULANNE, E. Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: a review. **Meat Science**, v. 132, e. 10, p. 139-152, 2017.

**QUANTIFICAÇÃO DE CÁLCIO, MAGNÉSIO E FERRO EM FOLHAS DE SOJA  
ATRAVÉS DA TÉCNICA LIBS UTILIZANDO O ONE-POINT CALIBRATION**L. C. L. Borduchi<sup>1,2,\*</sup>, D.M.B.P Milori<sup>2</sup>, P. R. Villas-Boas<sup>2</sup><sup>1</sup> Departamento de Física – Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luiz, 235, 13565-905, São Carlos, SP<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, XV de Novembro, 1452, 13560-970

\* Autor correspondente, e-mail: luisleva@df.ufscar.br

**Resumo:** O monitoramento de nutrientes na produção de soja por meio da análise foliar é essencial para a identificação de carências nutricionais e no diagnóstico de doenças que promovem perdas na produtividade da cultura. Atualmente, o diagnóstico em larga escala é impossibilitado devido ao alto custo das medidas e a geração de resíduos químicos que as técnicas quantitativas convencionais produzem, como a espectrometria de absorção atômica (AAS). Uma alternativa a essas técnicas é a espectroscopia de emissão de plasma induzido por laser (LIBS) – uma técnica espectro-analítica que proporciona análises multielementares de maneira rápida, com baixo custo e sem gerar resíduos químicos. A técnica se baseia no estudo da emissão óptica de um plasma formado a partir da interação de um laser de alta intensidade com a amostra. Apesar das vantagens da técnica, a análise quantitativa pode ser comprometida por causa de flutuações do laser, reprodutibilidade das condições do plasma e efeitos de matriz. Neste trabalho, propomos o uso do modelo *calibration free* (CF) corrigido pelo método *one point-calibration* (OPC) para quantificar ferro, cálcio e magnésio em folhas de soja de diferentes cultivares. Com o uso do OPC foi obtido uma validação de 92% em relação aos resultados obtidos através do AAS para 30 amostras de folha de soja, mesmo quando a variação de matriz foi evidente. Assim, demonstramos que o OPC-LIBS possui grande potencial para realizar análise foliar nutricional da soja de diferentes cultivares em larga escala, por não depender da matriz e ser de baixo custo, rápido e acurado. Com poucas modificações, os resultados deste trabalho podem ainda ser expandidos para outras culturas e outros elementos, permitindo assim uma análise foliar nutricional completa da cultura de interesse.

**Palavras-chave:** LIBS, *one-point calibration*, *calibration-free*, análise foliar nutricional, soja.

**CALCIUM, MAGNESIUM AND IRON QUANTIFICATION IN SOY LEAVES WITH LIBS  
TECHNIQUE USING ONE-POINT CALIBRATION**

**Abstract:** Nutrient monitoring in soybean production through leaf analysis is essential for the identification of nutritional deficiencies and diagnosis of diseases that cause losses in crop yield. Large-scale diagnosis is currently impossible due to the high cost of measurements and the generation of chemical waste that conventional quantitative techniques produce, such as atomic absorption spectrometry (AAS). An alternative to these techniques is Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) - a spectrum-analytical technique that provides fast, low cost multielemental analysis without generating chemical residues. The technique is based on the study of the optical emission of a plasma formed from the interaction of a high intensity laser with the sample. Despite the advantages of the technique, quantitative analysis can be compromised because of laser fluctuations, reproducibility of plasma conditions, and matrix effects. In this work, we propose the use of the calibration free (CF) model corrected by one point-calibration (OPC) method to quantify iron, calcium and magnesium in soybean leaves of different cultivars. With the use of OPC a 92% validation was obtained in relation to the results obtained through the AAS for 30 soybean leaf samples, even when the matrix effect was evident. Thus, we demonstrated that OPC-LIBS has great potential to perform nutritional leaf analysis of soybeans of different cultivars on a large scale, since it does not depend on the matrix and is low cost, fast and accurate. With few modifications, the

results of this work can be further expanded to other crops and other elements, thus allowing a complete nutritional leaf analysis of the crop of interest.

**Keywords:** LIBS, one-point calibration, calibration-free, leaf nutritional analysis, soybean.

## 1. Introdução

O monitoramento nutricional na produção de soja através da análise foliar é essencial para a identificação de carências nutricionais e no diagnóstico de doenças que promovem perdas na produtividade da cultura. As principais técnicas utilizadas atualmente para se realizar a análise são o analisador elementar CHN, a espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) e a espectrometria de absorção atômica (AAS). Entretanto, estas técnicas possuem um alto custo de execução e geram resíduos químicos, dificultando sua utilização em larga escala.

Uma alternativa a estas técnicas, é a espectroscopia de emissão de plasma induzida por laser (LIBS) (CREMERS; RADZIEMSKI, 2013). É uma técnica espectro-analítica rápida e de baixo custo que requer pouco preparo de amostra, não gera resíduos químicos e pode ser utilizada diretamente no campo (LAXMIPRASAD et al, 2013). A técnica LIBS se baseia no estudo da emissão do plasma gerado na superfície da amostra através de um laser de alta intensidade. O sinal é coletado por uma fibra ótica e resolvido por um espectrômetro que fornece o espectro contendo as emissões dos elementos presentes na amostra (ZOROV et al, 2015).

O modelo de quantificação mais simples em LIBS é a curva de calibração (CC), que se baseia na correlação entre a concentração de um certo elemento com a intensidade da emissão de uma de suas linhas de transição atômica ou iônica no espectro LIBS. Através deste modelo é possível prever a concentração do elemento de maneira rápida e fácil, mas sua eficácia pode ser prejudicada devido ao efeito de matriz (diferentes tipos de amostras resultam em diferentes curvas), que é provocado pela interação laser amostra e causa flutuações na intensidade das linhas de emissão e nos parâmetros do plasma (SEGNINI et al., 2014). Outra limitação do modelo é a necessidade de ter um conjunto de calibração, em que as amostras são medidas por uma técnica de referência. Visando aprimorar as análises quantitativas em LIBS, este trabalho usou um recente método de correção chamado de *one-point calibration* (OPC) (CAVALCANTI et al., 2013) para realizar a quantificação de nutrientes na folha de soja. OPC é um método de correção empírico aplicado ao modelo *calibration free* (CF) (CIUCCI et al, 1999) que tem o propósito de corrigir alguns problemas relacionados ao uso do modelo.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Confeção das amostras e coleta dos espectros

As amostras foram coletadas e levadas ao laboratório, onde elas foram limpas e submetidas ao processo de secagem em estufa a 30°C durante 72 h. Após a secagem as amostras foram trituradas com auxílio de nitrogênio líquido e peneiradas a 32 mesh. Para facilitar os cálculos do método OPC, foi adicionado nas amostras 0,5% de dióxido de titânio; a mistura foi homogeneizada e prensada a 3 ton, resultando em *pellets* de 300 mg. Foram utilizadas 30 amostras, divididas em 5 cultivares, apresentados na Tabela 1.

Tabela 2. Descrição das amostras de cada conjunto.

Conjunto	Nº Amostras	Cultivar
1	01 – 09	D7712244
2	10 – 18	TMG1182RR
3	19 – 20	P98Y70
4	21 – 25	M9144RR
5	26 – 30	ST820RR

Para a coleta dos espectros, foi utilizado o sistema comercial LIBS2500 da Ocean Optics, composto por um laser de Nd-YAG em 1064 nm, com pulsos de 8 ns de duração e energia máxima de 50 mJ; sete espectrômetros com um detector do tipo CCD com faixa espectral de 188 à 960 nm com resolução de 0,1 nm. As medidas foram realizadas em ar ambiente obtendo 120 espectros por amostra, com um *delay time* de 1  $\mu$ s e 1 ms de tempo de integração. As emissões foram identificadas utilizando a base de dados NIST (KRAMIDA et al., 2018) e os dados foram processados utilizando o software R, LibreOffice Calc e OriginLab.

## 2.2. Calibration free (CF)

O *calibration free* (CF) é um modelo de quantificação em LIBS baseado nos parâmetros físicos do plasma, como temperatura, densidade de elétrons e densidade de emissores, onde não há necessidade da construção de curvas de calibração. Para o cálculo da temperatura e densidade de elétrons, foi utilizado o *plot* de Saha-Boltzmann.

CF consiste em prever a concentração do elemento através da razão de sua densidade de emissores em relação à densidade total presente no plasma. Para facilitar os cálculos, é utilizado um elemento com concentração conhecida. A densidade de emissores é calculada através da distribuição de Boltzmann, onde é levada em conta a área da linha de emissão, temperatura do plasma e parâmetros específicos da linha de emissão disponíveis na base de dados NIST.

Por levar em conta os parâmetros físicos do plasma, o modelo CF acaba sendo menos sensível aos efeitos de matriz como ocorre com os modelos baseados apenas na intensidade das linhas de emissão. Entretanto, sua eficácia pode ainda ser prejudicada por diversos fatores, como o próprio efeito de matriz, cálculo da temperatura do plasma impreciso, erros nos parâmetros das linhas de emissão e outros efeitos não lineares, como a auto absorção e absorção pelo gás ambiente.

### 2.2.1. One-point calibration (OPC)

*One-point calibration* (OPC) é um método de correção empírico aplicado no cálculo de CF, onde é realizado uma calibração das intensidades das linhas de emissão (atômicas e iônicas) dos elementos de interesse através das concentrações obtidas por uma técnica de referência. Esta correção tem o objetivo de corrigir alguns problemas relacionados ao cálculo do CF que prejudicam sua eficácia. Para isso, é necessária a calibração dos fatores de correção, a partir de uma amostra de referência do conjunto, que serão aplicados nas demais amostras (BORDUCHI et al, 2019).

## 3. Resultados e Discussão

Inicialmente, fizemos os gráficos da relação entre as áreas das linhas de emissão de magnésio (Mg), cálcio (Ca) e ferro (Fe) e suas respectivas concentrações obtidas pela espectrometria de absorção atômica (AAS) (Figura 1).

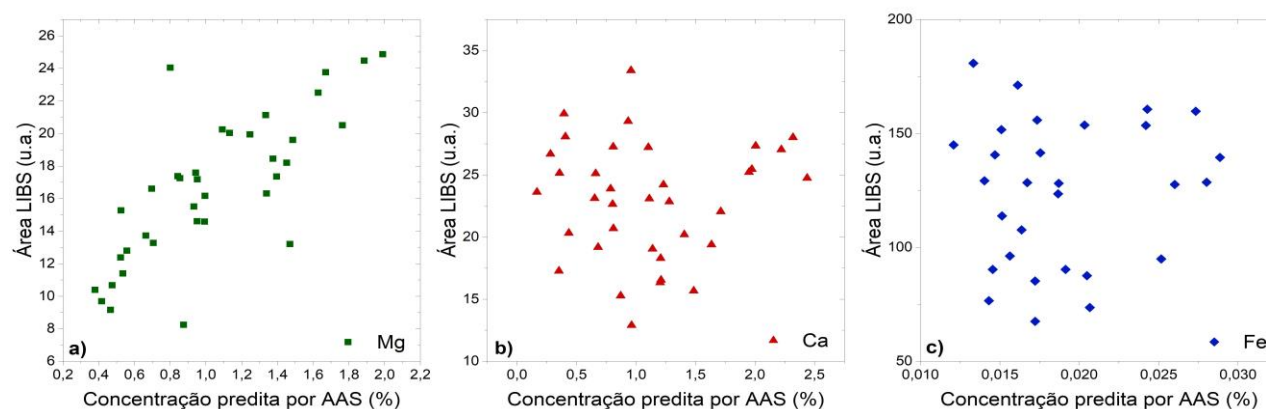


Figura 3. Curvas de calibração para a) magnésio (quadrados verdes), b) cálcio (triângulos vermelhos) e c) ferro (losangos azuis).

Não há uma relação clara entre as áreas LIBS e as concentrações dos elementos na Figura 1, exceto para Mg, que parece uma relação não linear. É provável que a falta de relação entre a área e a concentração dos elementos seja causada pelo efeito de matriz, por se tratar de amostras de diferentes cultivares. Sendo assim, não é possível construir as curvas de calibração para quantificar esses elementos nestas amostras.

O titânio (Ti) proveniente do dióxido de titânio, adicionado nas amostras, foi usado como referência interna para os cálculos do método OPC (BORDUCHI et al., 2019). Esse elemento foi usado ainda para calcular a temperatura do plasma e a densidade de elétrons, por possuir diversas emissões no espectro LIBS.

Para realizar a calibração do OPC, foi utilizado a amostra nº1, contendo 1,38% de Mg, 1,66% de Ca, 0,02% de Fe e 0,29% de Ti. Com essa amostra foi obtido os fatores de correção do OPC, que foram aplicados nas demais amostras sem realizar outra calibração ou ajuste.

A validação entre os valores preditos pelo OPC e a concentração predita pela AAS pode ser visualizada na Figura 2.

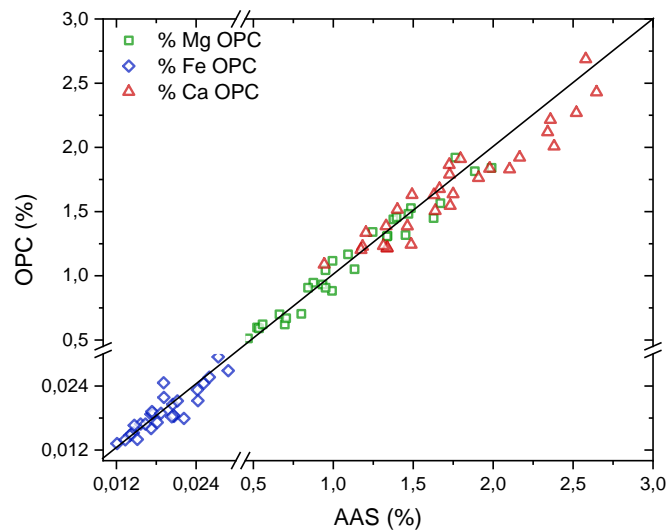


Figura 4. Validação dos valores preditos pelo OPC em relação a AAS, para o Mg (quadrados verdes), Ca (triângulos vermelhos) e Fe (losangulos azuis) .

Na Figura 2, vemos que os valores preditos pelo OPC estão muito próximos aos preditos pela AAS, resultando em uma validação de 92% e uma incerteza por volta de 6% para ambas as técnicas.

Este resultado mostra que o método OPC conseguiu superar problemas como o efeito de matriz, evidente na Figura 1. Por levar em contas parâmetros do plasma e a calibração com uma amostra do conjunto, o método se mostrou pouco susceptível aos efeitos de matriz e mais reprodutível aos métodos convencionais de calibração.

A adição do Ti para ser o parâmetro interno se mostrou eficiente, visto que se usássemos um valor de uma técnica de referência para ser o parâmetro interno o erro da medida seria maior. Além disso, o Ti foi essencial para garantir um cálculo acurado da temperatura do plasma, dando mais robustez e estabilidade para o modelo.

#### 4. Conclusões

O uso do método OPC em LIBS foi eficiente para predizer os valores de concentração do Mg, Ca e Fe em amostras de folha de soja de diferentes cultivares, em relação aos valores obtidos pela técnica AAS. O modelo foi ainda robusto para realizar análises quantitativas mesmo quando efeitos de matriz foram evidentes, o que não seria alcançado utilizando modelos de calibração convencionais.

A adição de um parâmetro interno contribuiu para os resultados obtidos, visto que permitiu o cálculo da temperatura do plasma de forma precisa e acurada, além de ter sido usado para os cálculos do método OPC.

Neste trabalho, foi mostrado que o uso da técnica OPC-LIBS para realizar a análise foliar de soja possui grande potencial para a agricultura de precisão, por se tratar de uma análise rápida e de menor custo que as técnicas convencionais. Ainda precisa ser investigada a extensão dos resultados deste estudo para outros nutrientes e outras culturas.

### **Agradecimentos**

Agradeço a Anielle Ranulfi, Aida Bebechibuli e Mauricio Meyer pelo fornecimento de amostras. Alice Raabe pela realização das análises de absorção atômica. A Embrapa Instrumentação e ao Laboratório de Óptica e Fotônica pelo fornecimento da infraestrutura na realização do trabalho. Ao CNPq (projetos n° 403405/2013 e 479994/2013-7), à Fapesp (CEPOF – projeto n°2013/07276-1), à Embrapa (projetos 03.11.09.013.00.00 e 04.11.10.004.00.06.02) pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa.

### **Referências**

- CREMERS, David A. e RADZIEMSKI, Leon J. Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. Oxford,UK: John Wiley & Sons Ltd, 2013.
- Laxmiprasad, A. S., Raja, V. L. N. S., Menon, S., Goswami, A., Rao, M. V. H., & Lohar, K. A. (2013). An in situ laser induced breakdown spectroscope (LIBS) for Chandrayaan-2 rover : Ablation kinetics and emissivity estimations. *Advances in Space Research*, 52(2), 332–341.
- Zorov, N. B., Popov, A. M., Zaytsev, S. M., & Labutin, T. A. (2015). Qualitative and quantitative analysis of environmental samples by laser-induced breakdown spectrometry. *Russian Chemical Reviews*, 84(10), 1021–1050.
- 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, Débora Marcondes Bastos Pereira . Physical and Chemical Matrix Effects in Soil Carbon Quantification Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. *American Journal of Analytical Chemistry*, v. 5, p. 722-729, 2014.
- Cavalcanti, G. H., Teixeira, D. V., Legnaioli, S., Lorenzetti, G., Pardini, L., & Palleschi. One-point calibration for calibration-free laser-induced breakdown spectroscopy quantitative analysis. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*. v. 87, p. 51–56, 2013.
- CIUCCI A., CORSI M., PALLESCI V., RASTELLI S., SALVETTI A., TOGNONI E.. New Procedure for Quantitative Elemental Analysis by Laser-Induced Plasma Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, v. 53, n. 8, p. 960–964, 1999.
- Kramida, A., Ralchenko, Yu., Reader, J. and NIST ASD Team (2018). NIST Atomic Spectra Database (version 5.6.1), <https://physics.nist.gov/asd> [Mon Sep 09 2019]. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD.
- BORDUCHI, Luís Carlos Leva e MILORI, Débora Marcondes Bastos Pereira e VILLAS-BOAS,Paulino Ribeiro. One-point calibration of Saha-Boltzmann plot to improve accuracy and precision of quantitative analysis using laser-induced breakdown spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 160, p. 105692, Out 2019.

**ALTERAÇÕES QUÍMICAS DE ÁCIDOS HÚMICOS PROMOVIDAS POR SISTEMAS DE  
MANEJO EM SOLOS SUBTROPICAIS**

C. Briedis<sup>1,2</sup>, J. C. de Moraes Sá<sup>1</sup>, D. M. B. P. Milori<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Ponta Grossa, Av. General Carlos Cavalcanti, 4748, 84030-900, Ponta Grossa, PR

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos

\* Autor correspondente, e-mail: [cleverbriedis@yahoo.com.br](mailto:cleverbriedis@yahoo.com.br)

**Resumo:** O objetivo desse estudo foi avaliar alterações qualitativas de ácidos húmicos (AH) de dois solos da região sul do Brasil, submetidos a diferentes usos e manejo do solo. Os AHs foram extraídos em solos de Ponta Grossa (PG) e Londrina (LDN), sob vegetação nativa (VN), plantio direto (PD) ou plantio convencional (PC). Através das técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear e fluorescência 3D, foi possível identificar alterações químicas nos AHs, os quais foram afetados pelo local, profundidade e manejo do solo. Dentre os manejos do solo, observou-se maior grau de humificação ou recalcitrância de AHs em solos de PC em comparação aos sob VN e PD, principalmente na camada de 0–5 cm. Além disso, a decomposição dos espectros de fluorescência 3D de AHs, resultou em dois componentes individuais, um com características altamente aromáticas (fluoróforo 1) e outro de características mais alifáticas (fluoróforo 2). Espectros dos solos de PG, da camada sub superficial e do manejo em PC tiveram maiores contribuições do fluoróforo 1, indicando maior aromaticidade de AHs nessas condições. A deposição de resíduos e proteção da matéria orgânica jovem em PD propiciam maiores concentrações de compostos alifáticos e de baixo peso molecular nesse sistema, diminuindo a aromaticidade de AHs.

**Palavras-chave:** espectroscopia de fluorescência, ressonância magnética nuclear, PARAFAC, plantio convencional, plantio direto.

**CHEMICAL CHANGES OF HUMIC ACIDS PROMOTED BY MANAGEMENT SYSTEMS IN  
SUBTROPICAL SOILS**

**Abstract:** The objective of this study was to evaluate qualitative changes of humic acids (HA) from two soils of southern Brazil, submitted to different soil uses and management. HAs were extracted in Ponta Grossa (PG) and Londrina (LDN) soils under native vegetation (NT), no-tillage (NT) or conventional tillage (CT). Through nuclear magnetic resonance and 3D fluorescence spectroscopic techniques, it was possible to identify chemical changes in HA, which were affected by sites, depth and soil management. Among the soil management, it was observed a higher humification degree or recalcitrance of HA in CT soils compared to under NV and NT, especially in the 0–5 cm layer. Besides, the decomposition of the 3D fluorescence spectra of HAs resulted in two individual components, one with highly aromatic characteristics (fluorophore 1) and one with more aliphatic characteristics (fluorophore 2). Spectra of PG soils, subsoil layer and CT management had higher contributions from fluorophore 1, indicating higher HA aromaticity under these conditions. The deposition of residues and the protection of young organic matter in NT provide higher concentrations of aliphatic and low molecular weight compounds in this system, reducing the aromaticity of HA.

**Keywords:** fluorescence spectroscopy, nuclear magnetic resonance, PARAFAC, conventional tillage, no tillage.

## 1. Introdução

O solo atua como um dos grandes reservatórios de carbono (C) orgânico do planeta. Entretanto, a conversão da vegetação natural, para o preparo convencional, tem reduzido sensivelmente os estoques originais de C (BRUUN et al., 2015), contribuindo para o aumento do CO<sub>2</sub> atmosférico. Em contrapartida, os solos agrícolas, quando manejados adequadamente e fundamentado em práticas conservacionistas, como o plantio direto, podem atuar como drenos de CO<sub>2</sub> atmosférico, promovendo o aumento e a recuperação do C ao longo do tempo e reduzindo o efeito antrópico nas mudanças climáticas (BRIEDIS et al., 2018; SPEROW, 2016). Apesar de bem documentado o efeito positivo do uso de PD sobre o aumento dos estoques de C no solo, a estabilidade e as alterações químicas da matéria orgânica do solo (MOS) em sistemas de manejo ainda são pouco conhecidos, principalmente em agrossistemas de regiões subtropicais e tropicais.

O uso de técnicas espectroscópicas para a caracterização da MOS são procedimentos que tiveram grande avanço na sua utilização nos últimos anos (MILORI et al., 2012). Cada técnica dessas, possui características próprias, as quais fornecem diferentes informações quanto a qualidade da MOS. Dessa maneira, a sua utilização em solos manejados em diferentes tipos de uso e manejo pode fornecer informações valiosas quanto a qualidade e processos de estabilização da MOS. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar alterações qualitativas de ácidos húmicos (AH) de dois solos da região sul do Brasil, submetidos a diferentes usos e manejo do solo.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Descrição dos locais e do uso e manejo do solo e coleta de solo

Em Ponta Grossa – PG (25°09'S–50°09'W, 865 m de altitude), o experimento foi conduzido sobre um Latossolo Vermelho distrófico, com textura (0–20 cm) composta por 650, 240 e 110 g kg<sup>-1</sup> de argila, silte e areia, respectivamente. O experimento de manejo do solo foi estabelecido em 1981 e inclui os tratamentos de preparo convencional (PC) e de plantio direto (PD). Em Londrina – LDN (23°11'S–51°11'W, 620 m de altitude), o experimento foi conduzido sobre um Latossolo Vermelho Eutroférico, formado de basalto, com textura do solo (0–20 cm) composta por 710, 280 e 10 g kg<sup>-1</sup> de argila, silte e areia, respectivamente. O experimento de manejo do solo foi estabelecido em 1989 e, assim como PG, inclui PC e PD.

No momento das amostragens, a duração dos experimentos em cada local era de 29 e 23 anos para PG e LDN, respectivamente. As amostras de solo foram coletadas nas profundidades de 0–5 e 10–20 cm. Nos dois locais, amostras de solo foram coletadas de uma área sob vegetação nativa (VN) adjacente representando o estado original e a referência para as comparações.

### 2.3. Análises laboratoriais

#### 2.3.1. Extração de substâncias húmicas

As amostras de solos, coletadas nos dois experimentos, foram submetidas a extração de substâncias húmicas (SHs) por diferença de solubilidade, de acordo com as recomendações da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS), que utiliza solução de NaOH diluída para dissolver o ácido húmico e HCl para sua precipitação.

#### 2.3.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN em estado sólido foram adquiridos com a técnica de polarização cruzada (CP) e rotação em torno do ângulo mágico (MAS) e coletados nas amostras de AHs dos dois locais. Os espectros obtidos foram divididos em quatro regiões, representando tipos diferentes de C: C alifático ou alquil (0–45 ppm), O–alquil C (45–110 ppm), C aril ou aromático (110–165 ppm) e C carbonila (165–215 ppm). A intensidade relativa de cada tipo de C foi obtida através da integração e medição da área sob a curva de cada região. A aromaticidade da MOS pelo RMN foi calculada pela relação C aromático / C O–alquil (DIECKOW et al., 2009).



### 2.3.3. Espectroscopia de fluorescência 3D

As amostras de AH foram diluídas para  $5 \text{ mg L}^{-1}$  com água deionizada e analisadas por espectroscopia de fluorescência em aparelho Perkin Elmer LS 50B. Os espectros de fluorescência no modo excitação-emissão (MEE) foram adquiridos no intervalo de varredura entre 240 a 700 nm para emissão e 220 a 510 nm para excitação. Foram obtidos com filtro de 290 nm, com um incremento de excitação de 10 nm totalizando 30 varreduras. O espectro obtido com essa técnica foi tratado usando um método matemático conhecido como análise de fatores paralelos (PARAFAC).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Caracterização de ácidos húmicos por espectroscopia de RMN

A análise de RMN de AHs extraídos em solos de PG e LDN mostrou diferenças entre os dois locais e entre os tratamentos de uso e manejo do solo (Figura 1). Em solos de PG, a distribuição relativa dos diferentes tipos de C foi: C alquil (35 %) > C O-alquil (31 %) > C aromático (23 %) > C carbonila (11 %). Em LDN a distribuição foi: C O-alquil (38 %) > C alquil (28 %) > C aromático (23 %) > C carbonila (11 %).

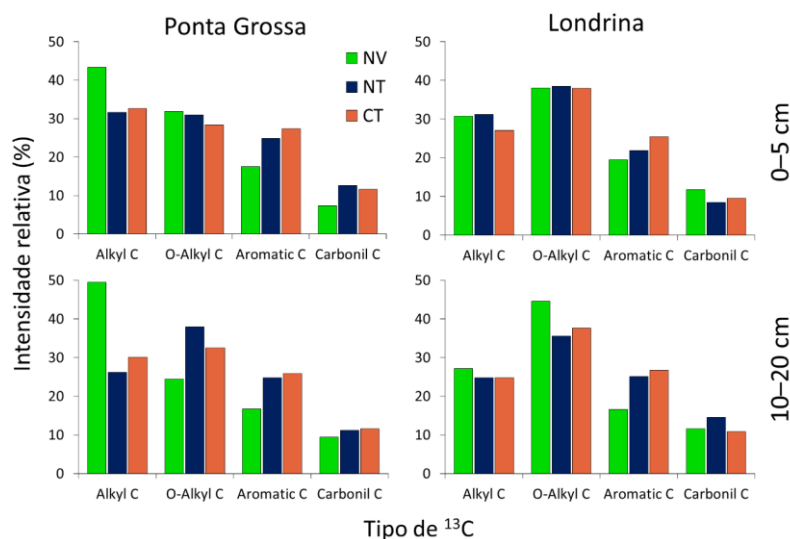


Figura 1. Contribuição relativa de cada tipo de C na intensidade total do sinal de  $^{13}\text{C}$  determinado por RMN e amostras de ácidos húmicos extraídos de solos de Ponta Grossa e Londrina, nas profundidades de 0–5 (a, c) e 10–20 (b, d) cm e sob diferentes sistemas de uso e manejo do solo.

Entre os sistemas agrícolas, as maiores diferenças foram observadas no C aromático, com menores proporções no PD em relação ao PC nos dois locais e nas duas profundidades (Figura 1). Essa tendência de maior distribuição de C aromático no sistema intensivo de manejo resultou no maior índice de aromaticidade de AHs nesse tratamento, nos dois locais e nas duas camadas, sendo as diferenças mais pronunciadas na camada superficial de 0–5 cm (Figura 2). Além disso, a aromaticidade de AHs na VN foi notoriamente menor em relação aos AHs extraídos de solos agrícolas nos dois locais de estudo. Esses resultados são consistentes com a maior decomposição de componentes lábeis em PC (BRIEDIS et al., 2018) e acúmulo, portanto, de componentes mais recalcitrantes nesse sistema de elevada perturbação do solo. Dieckow et al. (2009) também encontraram menor índice de aromaticidade determinado por RMN em solos sob plantio direto em experimentos de longa duração na região sul do Brasil, corroborando nossos resultados. Do ponto de vista agrônomo, menores proporções de C facilmente utilizáveis refletem em uma MOS menos biologicamente ativa, resultando assim, em uma diminuição na qualidade do solo em relação ao PD.

O baixo índice de aromaticidade encontrado na VN serve como um ponto de referência para outros sistemas alcançarem. Nesse sentido, os resultados desse trabalho apontam que o PD está em direção desses valores e que o processo de proteção de componentes lábeis é essencial para atingir níveis de qualidade do solo encontrada em ambientes naturais.

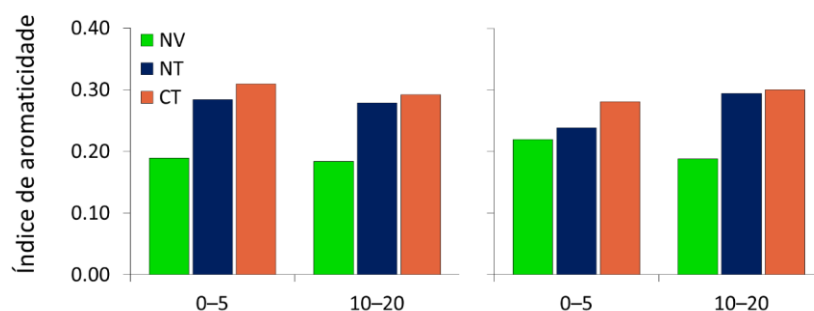


Figura 2. Índice de aromaticidade de ácidos húmicos extraídos de solos de Ponta Grossa e Londrina, nas profundidades de 0–5 (a, c) e 10–20 (b, d) cm e sob diferentes sistemas de uso e manejo do solo.

### 3.2. Caracterização de ácidos húmicos por espectroscopia de fluorescência 3D

Nesse estudo foi utilizado a decomposição das matrizes de emissão excitação (MEEs) em componentes individuais (fluoróforos) pelo PARAFAC. Esse método possui uma abordagem semi-quantitativa uma vez que permite quantificar a contribuição de cada componente específico nas amostras individuais. A decomposição das MEEs pelo PARAFAC resultou em dois fluoróforos individuais, os quais tiveram os valores de máxima intensidade de emissão/excitação em 250-300/510 (fluoróforo 1) e em 265/450 (fluoróforo 2) (Figura 3). Segundo Santín et al. (2009), o fluoróforo 1 é característico de componentes típicos de ácidos húmicos enquanto que o fluoróforo 2 é característico de componentes típicos de ácidos fúlvicos. Isso demonstra que mesmo AHs podem possuir alguns componentes de menor peso molecular e menor aromaticidade, os quais podem interagir entre si por interações hidrofóbicas e por pontes de hidrogênio, difíceis de serem separadas por métodos clássicos de extração, o que está alinhado com as mais recentes concepções sobre a estrutura de substâncias húmicas (PICCOLO, 2002). Adicionalmente, a máxima intensidade de emissão do fluoróforo 1 em um comprimento de onda mais longo (510 nm), em relação ao fluoróforo 2 (450 nm), pode ser devido ao seu maior conteúdo de materiais com elevado peso molecular e aromaticidade, consequência de um estado mais avançado de maturação das moléculas (GUIGUE et al., 2014).

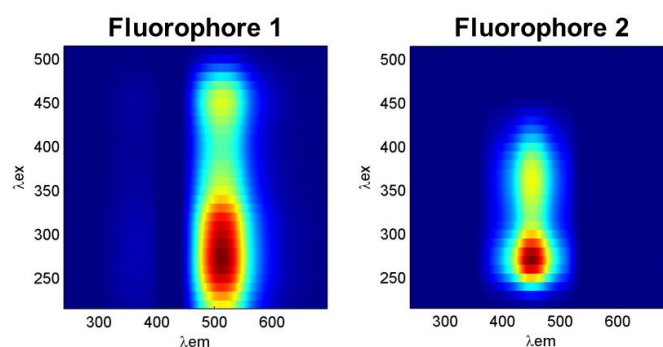


Figura 3. Fluoróforos 1 e 2 obtidos pelo método PARAFAC e descritivos da fluorescência tridimensional (MEE) dos ácidos húmicos extraídos de solos de Ponta Grossa e Londrina, nas profundidades de 0–5 e 10–20 cm e sob diferentes sistemas de uso e manejo do solo.

A abundância relativa de cada fluoróforo em cada tratamento (local, camada e uso do solo) está sumarizada na Figura 4. Entre os dois locais de estudo, observou-se menores contribuições de ambos os fluoróforos nas amostras de LDN, indicando que nesse ambiente a estrutura de AHs é menos fluorescente, ou seja, menos humificada. De maneira semelhante, amostras da camada de 0–5 cm tiveram menos contribuição dos dois fluoróforos em relação a camada de 10–20 cm, o que sugere um menor grau de humificação de AHs na camada superficial. Quanto aos manejos do solo, observou-se aumento da contribuição do fluoróforo 1 (mais aromático) na fluorescência dos AHs na ordem VN < PD < PC. Por outro lado, a contribuição do fluoróforo 2 foi VN < PC < PD.

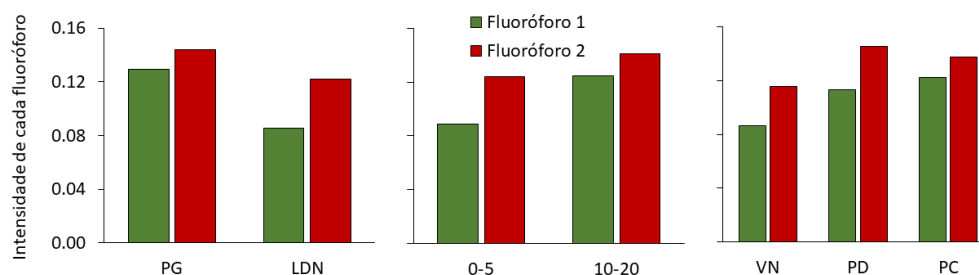


Figura 4. Contribuição dos fluoróforos 1 e 2 na fluorescência dos ácidos húmicos extraídos em solos de Ponta Grossa (PG) e Londrina (LDN), nas profundidades de 0–5 e 10–20 cm e sob diferentes sistemas de uso e manejo do solo.

#### 4. Conclusões

Os resultados encontrados com a fluorescência 3D e com a espectroscopia de RMN indicaram maior humificação de AHs extraídos em solos de PG, na camada de 10–20 cm e no manejo em PC, sendo que mecanismos distintos estão ligados para cada uma dessas observações. Enquanto que a mineralogia do solo pode estar direcionando para a menor humificação de AHs em LDN em relação a PG, processos bióticos relacionados a dinâmica de decomposição da MOS é o principal fator para as diferenças entre a humificação nas camadas e nos tratamentos de uso e manejo do solo. O acúmulo de compostos lábeis na camada superficial do solo (0–5 cm) e nos tratamentos de VN e PD, devido a deposição de resíduos frescos e à proteção física da fração particulada, resulta no menor grau de humificação de AHs nessas condições.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro fornecido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo nº 2016/02387-8).

#### Referências

- BRIEDIS, C. et al. How does no-till deliver carbon stabilization and saturation in highly weathered soils? *Catena*, v. 163, p. 13–23, 2018.
- BRUUN, T. B.; ELBERLING, B.; DE NEERGAARD, A.; MAGID, J. Organic Carbon Dynamics in Different Soil Types After Conversion of Forest to Agriculture. *Land Degradation & Development*, v. 26, p. 272–283, 2015.
- DIECKOW, J. et al. Land use, tillage, texture and organic matter stock and composition in tropical and subtropical Brazilian soils. *European Journal of Soil Science*, v. 60, p. 240–249, 2009.
- GUIGUE, J. et al. A comparison of extraction procedures for water-extractable organic matter in soils. *European Journal of Soil Science*, v. 65, p. 520–530, 2014.
- MILORI, D. M. B. P. et al. Emerging techniques for soil carbon measurements. *Climate Change Mitigation and Agriculture*, 2012. Disponível em: <<http://www.ccafs.cgiar.org>>. Acesso em: 29 ago. 2019.
- PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Advances in Agronomy*, v. 75, p. 57–134, 2002.
- SANTÍN, C. et al. Characterizing humic substances from estuarine soils and sediments by excitation-emission matrix spectroscopy and parallel factor analysis. *Biogeochemistry*, v. 96, p. 131–147, 2009.
- SPEROW, M. Estimating carbon sequestration potential on U.S. agricultural topsoils. *Soil and Tillage Research*, v. 155, p. 390–400, 2016.

**MODELO DE PREVISÃO DA SAFRA INTEGRADA UTILIZANDO ASSINATURA  
MAGNÉTICA DO SOLO**

A. C. Chitlango<sup>1</sup>, L. F. V. da Silva<sup>1,\*</sup>, J. D. F. e Silva<sup>1</sup>, D. S. Siqueira<sup>1</sup>, L. S. Silva<sup>1</sup>, R. P. Gomes<sup>1</sup>,  
J. Marques Jr.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP

\* Autor correspondente, e-mail: luis\_fernandosilva2013@hotmail.com

**Resumo:** A previsão da produtividade permite ao produtor planejar melhor as atividades agrícolas. Assim, o presente estudo teve como objetivo gerar um modelo de previsão integrada da safra de culturas, baseada em dados das pesquisas feitas em áreas com diferentes potenciais produtivos e utilizar a suscetibilidade magnética do solo para prever modelos de produção e qualidade de safra de diferentes culturas. A área de estudo está localizada no Planalto Ocidental Paulista, com clima classificado pelo método de Köppen, como tropical, quente e úmido, tipo Aw, seco no inverno. Foram utilizadas informações sobre os trabalhos resgatados contidas no banco de dados. A análise seguiu 4 etapas os quais, compreenderam padronização e modelagem dos dados para entender a variação e amplitude dos valores de suscetibilidade magnética (SM) nas diferentes formas de relevo. Observou-se variação da produtividade e qualidade das culturas quando separados por ambiente. Os valores de SM da forma côncava variaram de 1 a  $2 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$  e na convexa de 2 a  $5 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$ , onde a maior amplitude da SM na forma convexa mostrou que a produtividade e qualidade das culturas tende a aumentar com o aumento dos valores de SM. A suscetibilidade magnética pode ser utilizada como ferramenta na identificação de áreas com potencial agrônômico.

**Palavras-chave:** variabilidade espacial, planalto ocidental paulista, produtividade.

***INTEGRATED CROP FORECAST MODEL USING MAGNETIC SOIL SIGNATURE***

**Abstract:** Producer prediction allows the producer to better plan agricultural activities. Thus, the present study aimed to generate an integrated crop farmer prediction model, based on data from research conducted in areas with different yield potentials and to use soil magnetic susceptibility to predict yield and crop quality models of different crops. The study area is collated on the Western Plateau Paulista, with climate classified by the Koppen method as tropical, hot and humid, Aw type, dry in winter, Information about the rescued works contained in the database was used. The analysis followed 4 steps which comprised data standardization and modeling to understand the variation and amplitude of the SM values in the different relief forms. Variation in yield and crop quality was observed when separated by environment. Concave SM values ranged from 1 to  $2 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$  and in the convex range from 2 to  $5 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$ , where the largest amplitude of convex SM showed that crop quality tends to increase with increasing SM values. Magnetic susceptibility can be used as a tool to identify areas with agronomic potential.

**Keywords:** spatial variability, São Paulo state western plateau, productivity.

**1. Introdução**

A previsão da produtividade e qualidade agrícola permite ao produtor planejar melhor as atividades agrícolas (CARVALHO et al., 2004). No entanto, um dos problemas na elaboração de modelos de previsão para as safras de café, cana-de-açúcar e laranja é a variabilidade de fatores ambientais, tais como os atributos de clima e solo (CORTEZ et al., 2011; POLLO, 2013; SANTOS, 2014; SIQUEIRA, 2010). Assim, as interações entre a produtividade, atributos do solo e do relevo, avaliam as principais limitações à produção de uma determinada área ou região.

Neste contexto a utilização da assinatura magnética do solo, tem sido usada como técnica

fundamental na estimativa da produtividade e qualidade das culturas é um dos potenciais desafiadores para uma agricultura sustentável. Vários trabalhos científicos têm surgido na literatura buscando analisar os efeitos da variabilidade dos atributos de solo, utilizando valores da suscetibilidade magnética (SM) para melhorar os índices de produção agrícola (SIQUEIRA, 2010; SIQUEIRA et al., 2015; PELUCO et al., 2013; MARQUES JÚNIOR et al., 2014).

Estas informações auxiliam no mapeamento detalhado de solos, contribuindo na melhoria de um planejamento agrícola preciso, reforçando a economia no mercado de competitividade. A estimativa da safra agrícola e o entendimento da sua distribuição no espaço geográfico são de extrema importância para o planejamento estratégico (GOMES et al., 2014). Sendo assim, os modelos de previsão da safra integrada tornam-se ferramentas importantes na lavoura e estimam o rendimento ao longo da safra.

Assim, o objetivo do trabalho foi gerar um modelo de previsão integrada da safra de culturas, baseada em dados das pesquisas feitas em áreas com diferentes potenciais produtivos e utilizar a suscetibilidade magnética do solo para prever modelos de produção e qualidade de safra de diferentes culturas.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Áreas de estudo

As áreas de estudo estão localizadas no Planalto Ocidental Paulista (Figura 1). O clima da região, segundo Koppen e Geiger, (LIMA et al., 2017) é o Aw, caracterizado como clima tropical úmido com estação seca no inverno e precipitação média de 1.350 mm. O material de origem dos solos foi identificado como rocha arenítica sedimentar do Grupo Bauru (IPT, 1981). O solo foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo eutrófico, com teor de ferro total ( $Fe_2O_3$ ) menor do que  $40 \text{ g kg}^{-1}$ . Para este trabalho, foram utilizadas informações sobre os trabalhos resgatados contidas no banco de dados do Grupo de Caracterização do solo para fins de manejo específico - CSME.

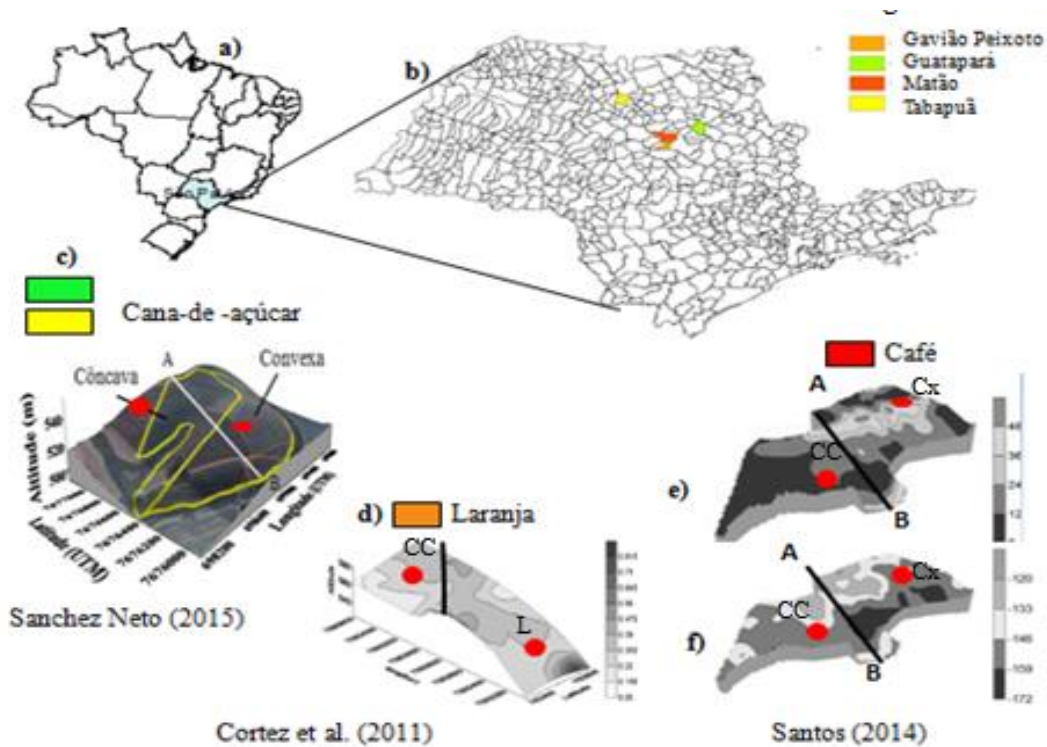


Figura 1. Representação de diferentes modelos de paisagem a e b (Mapas de localização); c, d, e, f (Pontos de amostragem) que foram utilizados como ferramentas de campo para auxiliar no delineamento unidades de produção com diferentes padrões de variabilidade de solo. N.B. e) Produção em  $sc \text{ ha}^{-1}$  e f) Qualidade do grão do café. Formas CC (côncava), Cx (convexa) e L (linear).

No município de Gavião Peixoto-SP, Cortez et al. (2011) utilizou a SM para prever atributos do solo e da planta de laranja. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho escuro distrófico de textura média. A área foi dividida em duas formas do relevo, côncavo e linear. No município de Matão-SP, Santos (2014), usou a SM como indicador de ambientes com diferentes potenciais de produção e qualidade de café em Argissolo proveniente de arenito. A região é caracterizada de topos, num perfil bastante ondulado em uma região de transição de um relevo convexo para côncavo.

Em outra análise, foi integrado o banco de dados do trabalho de Sanchez Neto (2015), com o objetivo de identificar áreas com diferentes potenciais produtivos e de qualidade da cana-de-açúcar. O solo foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo eutrófico, numa área que predomina relevo côncavo à convexa.

## 2.2. Análise de dados

Foram realizadas 4 etapas os quais, compreenderam padronização e modelagem dos dados para entender a variação e amplitude dos valores de SM nas diferentes formas de relevo.

Na primeira etapa foi modelado um total de 594 pontos atribuídos a 173, 121 e 300 pontos nas áreas de cultivo de café, cana-de-açúcar e laranja respectivamente. Com isso, foi construído gráfico de dispersão para compreender a relação entre a produtividade e a qualidade das culturas numa safra integrada em relação à variação da amplitude da SM. Na segunda etapa, foi construído o gráfico de dispersão de cada conjunto de pontos, para verificar a similaridade dentro das formas côncavas e convexas.

Para a terceira etapa, o gráfico de dispersão comprovou a tendência da relação entre a produtividade e qualidade da safra integrada com as potencialidades do solo, usando o magnetismo do solo. Apresentou-se uma tabela com as médias da produtividade e qualidade das culturas separadas por formas de relevo e dados de magnetismo.

## 3. Resultados e Discussão

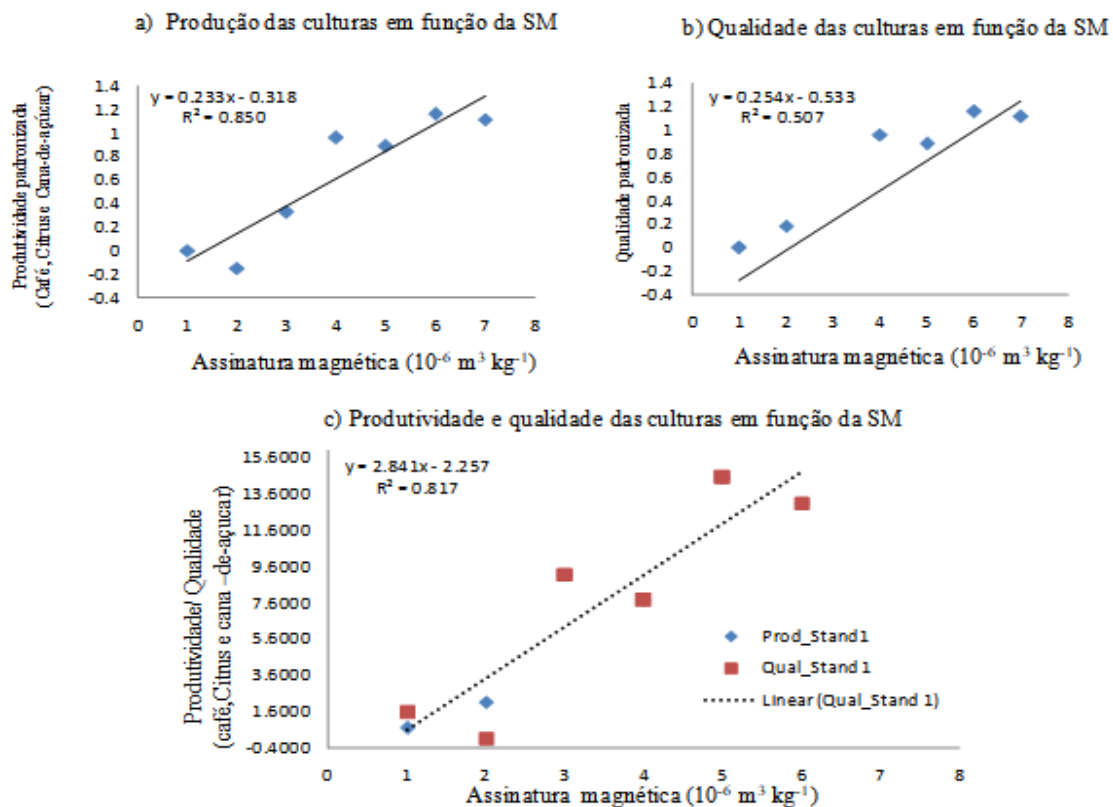


Figura 2. a) Produção das culturas, b) Qualidade das culturas e c) Produção e qualidade das culturas em função da suscetibilidade magnética.

Observou-se na Figura 2 variação da produtividade e qualidade das culturas quando separados por ambiente. Os valores de SM da forma côncava variaram de 1 a  $2 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$  e na convexa de 2 a  $5 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$ , onde a maior amplitude da SM na forma convexa mostrou que a produtividade e qualidade das culturas tende a aumentar com o aumento dos valores de SM.

Porém, verifica-se que, a produtividade e qualidade das culturas apresentaram a SM  $2 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$  de amplitude. Desse modo, pode-se considerar ponto ideal das culturas em diferentes ambientes. No geral, observa-se uma tendência linear da produtividade e qualidade das culturas em relação a SM.

Os resultados demonstraram que, o magnetismo de solo é um indicador da previsão de produção e qualidade de safra de diferentes culturas, numa safra integrada, podendo aumentar ou reduzir as suas potencialidades produtivas. Os maiores valores de produtividade e de qualidade estão próximos de maiores valores da SM, enquanto locais com produtividade e qualidade baixa são próximos a menores valores de SM.

#### 4. Conclusões

A suscetibilidade magnética pode ser utilizada como ferramenta na identificação de áreas com potencial agrônomo, e para prever modelos de produção e qualidade de safra de diferentes culturas.

#### Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a FAPESP (Fundação de Amparo a pesquisa do Estado de São Paulo) e a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelos auxílios financeiros propiciados.

#### Referências

- CARVALHO, L. G.; SEDIYAMA, G. C.; CECON, P. R.; ALVES, H. M. R. Modelo de regressão para previsão de produtividade de cafeeiros no Estado de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 8, p. 204-211, 2004.
- CORTEZ, L.A.; MARQUES JÚNIOR, J.; PELUCO, R.G.; TEIXEIRA, D.B.; SIQUEIRA, D.S. Suscetibilidade magnética para identificação de áreas de manejo específico em citricultura. *Revista energia na agricultura* v. 26, n.2, p.60-79, 2011.
- GOMES, A.S.; ROBAINA, A.D.; PEITER, M.X.; SOARES, F.C.; PARIZI, A.C. Modelo para estimativa da produtividade para a cultura da soja. *Ciência Rural*, v.44, n.1, p.44-49, 2014.
- IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo. Mapa geomorfológico do Estado de São Paulo, São Paulo: IPT, 1981. 94 p.
- LIMA, M. T. V. et al. Koppen-Geiger and Thornthwaite climatic classification for the metropolitan region of the Cariri, Ceará. *Revista Geama*, v. 33, n. 3, p. 136–143, 2017.
- MARQUES JÚNIOR, J.; SIQUEIRA, D.S.; CAMARGO, L. A.; TEIXEIRA, D. D. B.; BARRÓN, V.; TORRENT, J. Magnetic susceptibility and diffuse reflectance spectroscopy to characterize the spatial variability of soil properties in a Brazilian Haplustalf. *Geoderma*, V. 219, n.220, p.63-71, 2014.
- PELUCO, R.G.; MARQUES JÚNIOR, J.; SIQUEIRA, D. S.; PEREIRA, G. T.; BARBOSA, R. S.; TEIXEIRA, D. B.; ADAME, C. R.; CORTEZ, L. A. Suscetibilidade magnética do solo e estimação da capacidade de suporte à aplicação de vinhaça. *Pesquisa agropecuária*, v.48, n.6, p.661-672, 2013.
- POLLO, G. Z. Suscetibilidade magnética, atributos do solo e da planta na discriminação de áreas de manejo específico na cultura do café. 2013. 58p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.
- SANCHEZ Neto, V. Produção e qualidade da cana-de-açúcar em diferentes formas do relevo. 2007. 112p. Tese (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.

- SANTOS, H.M. Suscetibilidade magnética e espessura do horizonte A+E de Argissolos como indicadores da produção e qualidade da cultura de café. 2014.42p. Graduação (Agronomia)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.
- SIQUEIRA, D.S. Suscetibilidade magnética para a estimativa de atributos do solo e mapeamento de áreas sob cultivo de cana-de-açúcar. 2010. 76p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade estadual paulista, Jaboticabal, 2010.
- SIQUEIRA, D.S.; MARQUES JÚNIOR, J.; PEREIRA, G.T.; TEIXEIRA, D.B.; VASCONCELOS, V.; CARVALHO JÚNIOR, O. A.; MARTINS, E. S. Detailed mapping unit design based on soil–landscape relation and spatial variability of magnetic susceptibility and soil color. *Catena*, v.135, n.p.149-162, 2015.



**AVALIAÇÃO DE ATRIBUTOS DO SOLO PARA DESENVOLVIMENTO DE FUNÇÃO DE PEDOTRANSFERÊNCIA PARA ESTIMATIVA DE TEORES DE CARBONO EM SOLOS BRASILEIROS: ANÁLISE EXPLORATÓRIA**

A. C. M. Cidin<sup>1,\*</sup>, M. L. R. C. Lopes-Assad<sup>2</sup>, S. Crestana<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo, Avenida Trabalhador São Carlense, 400, CEP 13566-590, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Anhanguera, km 174, CEP 13604-900, Araras São Paulo, leonorrcla@gmail.com

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, CEP 13560-970, São Carlos, São Paulo, silvio.crestana@embrapa.br

\* Autor correspondente, e-mail: carolcidin@gmail.com

**Resumo:** Tendo em vista a necessidade de estimativas de teores de C mais precisas, numerosas, econômica e ambientalmente viáveis, como estratégia de mitigação das emissões de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) na atividade agropecuária, as funções de pedotransferências (PTF) podem ser desenvolvidas para estimar a quantidade de C, a partir de dados de atributos facilmente obtidos em análises de rotina. Este trabalho, que está em andamento, teve por objetivo apresentar a análise de dados de solos brasileiros organizados. Anteriormente, um banco de dados foi organizado em planilha, com informações de solos brasileiros, extraídas de diversas fontes e publicados até 2015. Após atualização e verificação crítica para ajustes e padronização de unidades, o banco ficou composto por 5.264 amostras de solo com profundidade 0-30 cm. Foram realizadas análises de estatística descritiva e construídos boxplots para apresentar as medidas de tendência central, de dispersão, dados discrepantes e extremos. As amostras recobriram todo o território brasileiro e classes e uso do solo. O alto CV dos atributos reflete à variabilidade de classes de solo. Amostras de C com valores acima de 80 gkg<sup>-1</sup> foram consideradas *outliers*. Apesar da distribuição assimétrica e a presença de *outliers*, o banco de dados tem potencial para desenvolver a PTF.

**Palavras-chave:** banco de dados, carbono orgânico, modelagem.

**EVALUATION OF SOIL ATTRIBUTES FOR DEVELOPMENT OF PEDOTRANSFERENCE FUNCTION FOR CARBON CONTENT ESTIMATION IN BRAZILIAN SOIL: EXPLORATORY ANALYSIS**

**Abstract:** In view of the need for more precise, numerous, economically and environmentally feasible C content estimates, as a strategy for mitigating carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) emissions in agricultural activity, pedotransfer functions (PTF) can be developed to estimate the amount of C, from attribute data easily obtained in routine analyses. This work, which is in progress, aimed to present the analysis of data from organized Brazilian soils. Previously, a database was organized in a spreadsheet, with information on Brazilian soils, extracted from various sources and published until 2015. After updating and critical verification for adjustments and standardization of units, the database was composed of 5,264 soil samples with depth 0-30 cm. Descriptive statistical analyses were performed and boxplots were constructed to present measures of central tendency, dispersion, discrepant and extreme data. The samples covered the entire Brazilian territory and classes and land use. The high CV of the attributes reflects the variability of soil classes. Samples with C values above 80 gkg<sup>-1</sup> were considered outliers. Despite the asymmetric distribution and the presence of outliers, the database has the potential to develop PTF.

**Keywords:** database, organic carbon, modeling.

## 1. Introdução

O manejo e uso do solo são considerados as principais fontes de emissões de gases de efeito estufa (GEE), principalmente o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), no país (BRASIL, 2012). Contudo, o solo tem a capacidade de armazenar maior quantidade de carbono (C), comparado com a vegetação e a atmosfera (CERRI; CERRI, 2007).

A necessidade de medir a quantidade de C nos solos tem sido discutida mundialmente por entidades relacionadas às pesquisas sobre mudanças climáticas, com o intuito de se obter estimativas mais precisas (ROSSEL; BRUS, 2018), que possam compor um inventário de C no solo e subsidiar pesquisas e planejamentos de ações, visando o manejo e proteção de áreas com elevado potencial de estocar C no solo e ampliar a agricultura de baixo C (BRASIL, 2012), além de ser pré-requisito para iniciativas privadas de crédito de C. Organizar informações sobre solos em banco de dados é uma estratégia importante para estimar potenciais áreas de sequestro de C em escala nacional (SOMARATHNA, MINASNY, MALONE, 2017).

Existem vários métodos para determinar os teores de C no solo: via úmida (NELSON; SOMMERS, 1996; PIMENTEL et al., 2006; WALKLEY; BLACK, 1934), via seca: mufla, analisadores automatizados, simulação através dos modelos Century (PARTON et al., 1987) e Roth C (COLEMAN; JENKINSON, 1996). Cada método tem vantagens e limitações, porém, idealiza-se o desenvolvimento de procedimento alternativo de baixo custo econômico e favorável ambientalmente, combinado com adequada precisão e acurácia, como estratégia para a estimativa de C em solos cultivados com diferentes sistemas de produção. Nesse sentido, as funções de pedotransferência (PTF) podem ser desenvolvidas para estimar a quantidade de C, a partir de dados de atributos facilmente obtidos em análises de solo (BOUMA, 1989; LOOY et al., 2017). O desenvolvimento de tais funções permite a estimativa dos teores de C a partir de informações de granulometria, CTC, densidade do solo (DS) e dados de climatologia (FERNÁNDEZ-UGALDE, TÓTH, 2017; MWANGO et al., 2019).

Este trabalho teve por objetivo apresentar a análise de dados de solos brasileiros organizado para desenvolver uma PTF para estimar teores de C no solo.

## 2. Materiais e Métodos

Dados de solos brasileiros foram extraídos de artigos científicos publicados em revistas nacionais e internacionais, de dissertações e teses defendidas em programas de pós-graduação do Brasil e de boletins técnicos de levantamentos de solos publicados até 2015 e organizados em planilha Excel (CIDIN, 2016).

Após atualização, foram levantados dados de 5.264 amostras na profundidade 0-30 cm. Os atributos organizados foram: local de amostragem, data de coleta, classificação do solo e uso do solo, composição granulométrica (teores de areia, silte e argila), soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica total (CTC), quantidade de C, saturação por base (m), saturação por alumínio (V) e referência de origem dos dados. Neste trabalho serão discutidos os atributos teores de areia, silte, argila, CTC, SB e C.

Após a verificação crítica para ajustes e padronização de unidades, foram realizadas análises de estatística descritiva e foram construídos, no *software* R (R Core Team, 2014), boxplots para apresentar as medidas de tendência central, de dispersão, dados discrepantes e *outliers*, que foram identificados a partir do interquartil (IQR) e os primeiros e terceiros quartis e os cálculos dos limites superior e inferior (ROUSSEEUW; HUBERT, 2017).

## 3. Resultados e Discussão

A maior contribuição dos dados corresponde às amostras dos estados da região Norte, com 1.439 observações (27,4% dos dados), seguidos da região Nordeste e Sudeste, com 1.400 e 952 amostras, respectivamente. (Figura 1). As regiões Centro Oeste e Sul contribuíram com 764 e 689 amostras, respectivamente. Este resultado difere de Benedetti et al (2008), que verificaram com um banco de dados formado por 5.479 perfis de solos brasileiros, visando a atualização da sua

classificação, que 33,3% dos dados eram da região Norte, 26,4% da região Centro Oeste, 23,5% da região Nordeste, com as regiões Sudeste e Sul contribuindo com 9,2% e 7,7%, respectivamente. Na distribuição por estados (Figura 1), observou-se que Minas Gerais foi o estado com maior número de observações, totalizando 578 amostras (11%), enquanto o Amapá contribuiu com o menor número (58 amostras ou 1,1%).

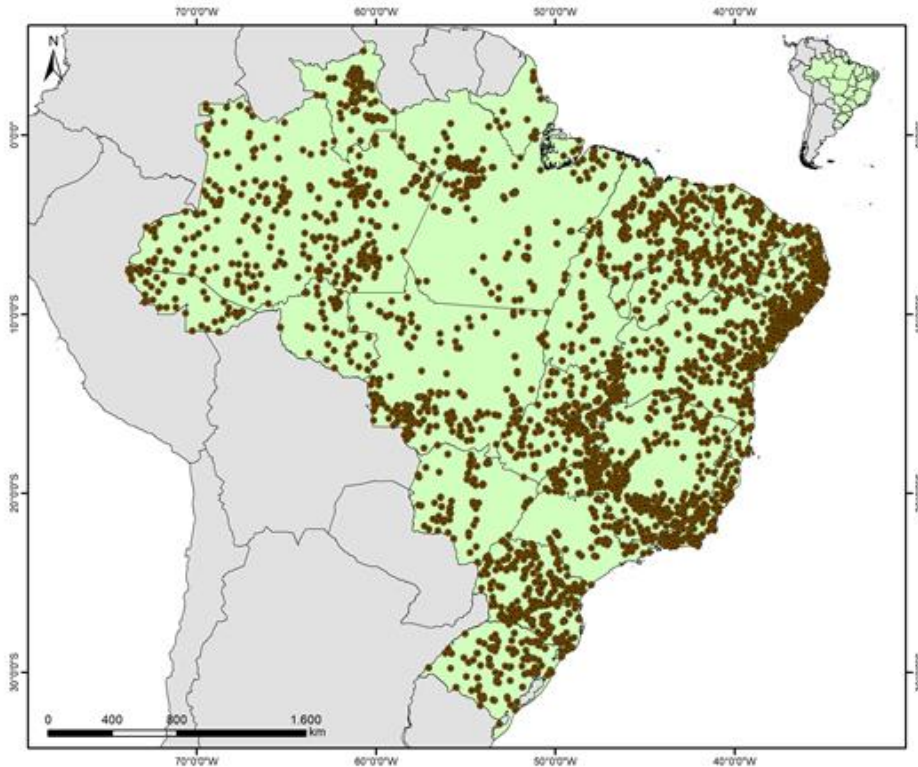


Figura 1. Distribuição das amostras de solo no Brasil.

O banco de dados representou quase as classes de solo definidas no Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SANTOS et al., 2013) (Figura 2a). Assim como em Santos et al. (2011), Argissolos e Latossolos somam mais de 50% das amostras.

Entre as principais classes de uso do solo implantadas no Brasil e contempladas no banco de dados (Figura 2a), o maior número de dados corresponde a amostras de pastagens (1888 amostras), seguido de cultura anual (699 amostras) e vegetação nativa (645 amostras).

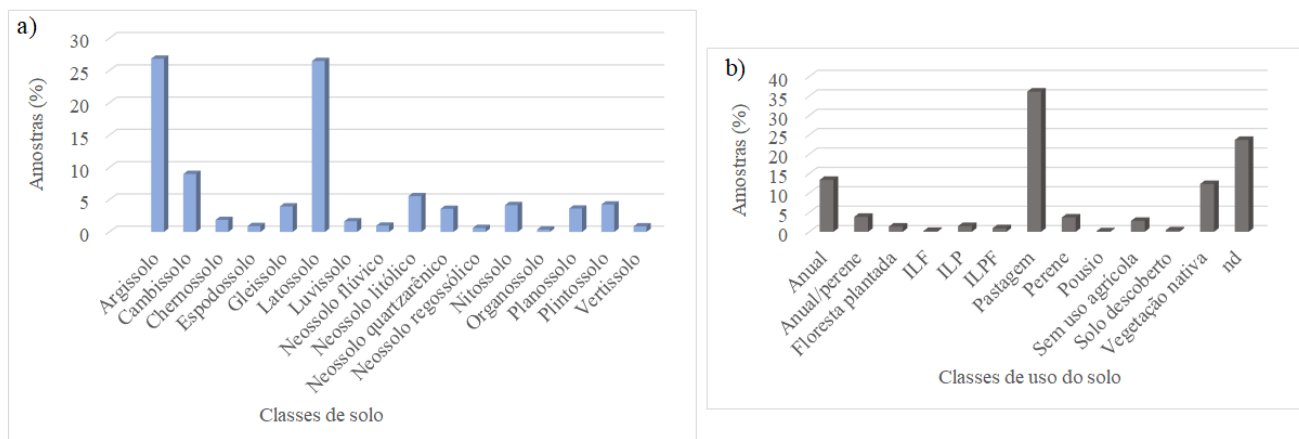


Figura 2. Distribuição das amostras por (a) classes de solo e (b) classes de uso do solo. (ILF = Integração lavoura-floresta, ILP = integração lavoura-pecuária, ILPF = Integração lavoura-pecuária-floresta, nd= não definido)

O elevado DP para atributos granulométricos e o elevado CV para atributos químicos refletem a variabilidade de classes do solo do banco de dados (Tabela 1).

Tabela 1. Estatística descritiva dos dados

Variável	N	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	DP	CV (%)
Areia (g kg <sup>-1</sup> )	5.264	2,0	985,0	472,5	490,0	262,1	55,5
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	5.264	0,0	865,0	211,0	170,0	146,9	69,4
Argila (g kg <sup>-1</sup> )	5.264	1,0	935,0	316,6	280,0	202,7	64,1
CTC (cmolc kg <sup>-1</sup> )	5.264	0,3	290,7	17,7	13,0	17,9	104,4
SB (cmolc kg <sup>-1</sup> )	5.264	0,0	158,2	7,9	3,0	13,3	165,9
C (g kg <sup>-1</sup> )	5.264	0,4	559,4	25,7	18,7	28,2	98,9

*N* = número de amostras, *DP* = desvio-padrão, *CV* = coeficiente de variação

Os teores de areia, silte e argila apresentaram distribuições assimétricas, com presença de outliers nos teores de silte e argila (Figura 3a). Solos com textura siltosa foram observados em Argissolos, Cambissolos, Gleissolos, Neossolos flúvicos, Planossolos e Plintossolos. Os dados de CTC e SB foram homogêneos, com muita presença de *outliers* (Figura 3b). Valores de C acima de 80 gkg<sup>-1</sup> foram considerados *outliers* (Figura 4c), com representações em amostras de pastagem, vegetação nativa e cultura anual em todas as regiões do país. O maior valor de C refere-se a uma amostra de Latossolo da região Sudeste.

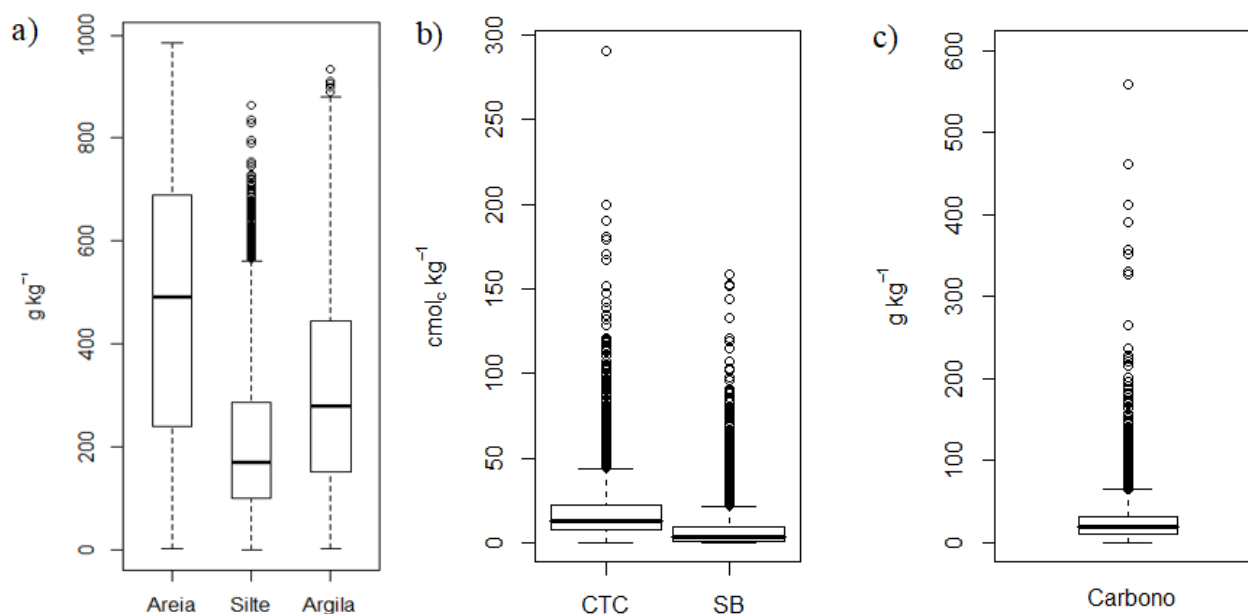


Figura 3. Distribuição dos teores de (a) areia, silte, argila, (b) CTC (total), soma de bases (SB) e (c) carbono representados em boxplots

#### 4. Conclusões

O grande número de dados organizado recobriu todo o território brasileiro, representando as principais classes de solo e uso do solo existentes no país. Apesar da presença de *outliers* em algumas variáveis e distribuições assimétricas dos dados, o banco de dados tem grande potencial para desenvolver a PTF para estimar teores de C no solo e contribuir com a mitigação das emissões de CO<sub>2</sub>.

**Agradecimentos**

À CAPES pela concessão de bolsa e Embrapa Instrumentação pelo apoio.

**Referências**

- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Plano setorial de mitigação e de adaptação às mudanças climáticas para a consolidação de uma economia de baixa emissão de carbono na agricultura: plano ABC (Agricultura de Baixa Emissão de Carbono). Brasília: MAPA/ACS, 2012, 173 p.
- CERRI, C.C.; CERRI, C.E.P. Agricultura e aquecimento global. Boletim Informativo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.23, p.40-44, 2007.
- CIDIN, A.C.M. Estoque de carbono em solos brasileiros e potencial de contribuição de mitigação de emissões de gases de efeito estufa. 2016. 76 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Ambiente) - Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2016.
- FERNANDEZ-UGALDE, O.; TÓTH, G. Pedotransfer function for predicting organic carbon in subsurface horizons of European soils. *European Journal of Soil Science*, 2017. DOI: 10.1111/ejss.12464.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). Climate change 2001: The scientific basis. Cambridge, Cambridge University, 2001, 881p.
- LOOY, K.V. et al. Pedotransfer functions in Earth system science: challenges and perspectives. *Reviews of Geophysics*. v.55, p.1199-1256, 2017. doi:10.1002/2017RG000581
- MWANGO, S.B. et al. The use of pedo-transfer function for estimating soil organic carbon contents in maize cropland ecosystem in the Coastal Plains of Tanzania. *Catena*, v.172, p.163-169, 2019.
- PIMENTEL, L.C.F. et al. O inacreditável emprego de produtos químicos perigosos no passado. *Química Nova*, v.29, p.1138-1149, 2006.
- PARTON, W.J. et al. Analysis of factors controlling soil organic matter levels in great plains grasslands. *Soil Science Society America Journal*, v.51, p.1173-1179, 1987.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: the R Foundation for Statistical Computing. 2014. Disponível em: <http://www.R-project.org/>.
- ROUSSEEUW, P.J.; HUBERT, M. Anomaly detection by robust statistics. *WIRES Data Mining and Knowledge Discovery*. Lovaina, Belgium, p. 3-4, 2017.
- SANTOS, H. G. dos et al. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 3 ed. rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2013, 353 p.
- SANTOS, H. G. dos et al. O novo mapa de Solos do Brasil: Legenda atualizada. Embrapa Solos, 2011. (Documento n. 130).
- SOMARATHNA, P.D.S.N., MINASNY, B.; MALONE, B.P. More Data or a Better Model? Figuring Out What Matters Most for the Spatial Prediction of Soil Carbon. *Soil Science Society of America Journal*, v.81, p.1413-1426, 2017. doi:10.2136/sssaj2016.11.0376
- YEOMANS, J.C.; BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.19, p.1467-1476, 1988.
- WALKLEY, A.; BLACK, I.A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, v. 37 p. 29-38, 1934.

**CARACTERIZAÇÃO GRANULOMETRICA EM AREAS DE NEOSSOLO  
QUARTZARENICO EM ECOSSISTEMA NATURAL, SISTEMA AGROFLORESTAL E  
PASTAGEM**C. P. Cunha<sup>1,\*</sup>, S. Crestana<sup>2</sup><sup>1</sup> *Universidade de São Paulo, Avenida Trabalhador São-Carlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP*<sup>2</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP*\* *Autor correspondente, e-mail: cristianopcunha@usp.br*

**Resumo:** Há necessidade de estudos de forma a avaliar e desenvolver o manejo adequado para o desempenho de uma agricultura capaz de conciliar os princípios ecológicos aliando produção e serviço ambiental. Os sistemas agroflorestais regenerativos vêm sendo utilizados e testados, com destaque ao aporte de carbono orgânico ao solo pela biomassa, com a possibilidade de elevar seu estoque. A área de Neossolo Quartzarênico implantada em 2014 vem sendo acompanhada por pesquisadores de várias instituições, esta localizado no município de Itirapina, SP, onde ocorre transição entre biomas Mata Atlântica e Cerrado. O objetivo é analisar os dados de granulometria nas camadas do solo em diferentes tratamentos nas camadas até a 1 metro de profundidade. A coleta de solo foi realizada nos três tratamentos: (i) SAF frutas, (ii) pasto e (iii) mata em trincheiras nas camadas em profundidades 0-0,4 m, 0,4 a 0,8 m e 0,8 a 1 metro com cinco repetições de amostras. Na análise das frações granulométricas verificou-se que as áreas de estudo são intensamente arenosas, com teores de areia sempre superiores a 89%. Nesta região arenosa com limitação nas propriedades físicas é evidente o desafio em estabelecer boas práticas de manejo para sequestrar o carbono no solo.

**Palavras-chave:** granulometria, serviço ambiental, carbono no solo, sistema agroflorestal.

***GRANULOMETRIC CHARACTERIZATION IN ENTISOL QUARTZIPSAMMENT AREAS IN  
NATURAL ECOSYSTEM, AGROFORESTRY SYSTEM AND PASTURE***

**Abstract:** There is a need for studies to evaluate and develop proper management for the performance of an agriculture capable of reconciling ecological principles combining production and environmental service. Regenerative agroforestry systems have been used and tested, highlighting the contribution of organic carbon to the soil by the biomass, with the possibility of increasing its stock. The Entisol Quartzipsamment area was implemented in 2014 and has been accompanied by researchers from various institutions located AFS in Itirapina, state of SP, Brazil, a transition region between the Mata Atlântica and e Cerrado biomes. The Objective is to analyze the granulometry data with different treatments of layers down to one meter deep. The soil collection was carried out in the three treatments: (i) Agroforestry system developed for fruit culture\wood (ii) conventional pasture and (iii) forest fragment at depths 0-4, 0,4 to 0,8 m and 0,8 to 1,0 meter with five sample repetitions. The analysis of the granulometric fractions showed that the studied areas are intensely sandy, with sand contents always higher than 89%. In this sandy region with limited physical properties, the challenge of establishing good management practices to sequester carbon in the soil is quite obvious.

**Keywords:** soil granulometric fractions, environmental service, soil carbon, agroforestry system

**1. Introdução**

A adoção de boas práticas de manejo na agricultura e de sistemas integrados de produção pode proporcionar ao setor de produção agrícola brasileiro uma redução nas emissões de gases de efeito estufa (Pinto et al., 2013). No entanto, trabalhos com o objetivo de mostrar como essa

dinâmica de sequestro de Carbono (C) e aumento dos estoques de C ocorre em sistemas de agricultura regenerativa, ainda são escassos. Ressalta-se que o conhecimento dos estoques de carbono no solo é fundamental por ser um componente muito importante na agricultura de baixa emissão de carbono (Assad et al., 2013). O entendimento da distribuição granulométrica das partículas do solo nos oferece características importantes sobre propriedades como porosidade, compactação, condutividade hidráulica, adsorção de nutrientes e resistência mecânica (PEJON et. al., 2013).

Neste contexto, a Fazenda da Toca vem se destacando no desenvolvimento e avaliação de modelos produtivos conhecidos como sistemas agroflorestais regenerativos. A partir do manejo realizado com máquinas consegue-se o aporte de biomassa e a possibilidade de capturar o carbono atmosférico e acumular como reservatório no solo, aliando assim produção e serviço ambiental. Desta forma podemos fundamentar as informações com estudos científicos auxiliando em processos de certificação e prestação de serviços ambientais. Para alcançar esse objetivo o conhecimento do tamanho das partículas constituintes do solo é estrutural.

O objetivo geral dos SAFs é maximizar os efeitos ecológicos benéficos das interações que ocorrem entre os componentes arbóreos e as culturas ou animais. Também é recomendado como uma alternativa promissora para a recuperação de solos degradados, além de se constituir num sistema de produção sustentável para os trópicos úmidos, sem a utilização de insumos externos colaborando com o sequestro de carbono na biomassa e matéria orgânica no solo. Os desenhos de SAFs são considerados modelos diferenciados para o desenvolvimento rural, podendo ser implantado em áreas de preservação permanente, na recuperação de áreas degradadas e paisagens fragmentadas pelas atividades agropecuárias (GLIESSMAN, 2009).

Neste estudo pesquisaremos a distribuição do tamanho das partículas obtida através das técnicas de análise granulométrica pelo método da pipeta e o analisador granulométrico. As técnicas são relativamente simples e de baixo custo, mas apresentam algumas limitações e desvantagens (VAZ et al., 1992).

## 2. Materiais e Métodos

A área de estudo esta localizada na Fazenda da TOCA em Itirapina-SP onde existem pesquisas aplicadas desde 2013 para avaliação SAFs modulares com potencial para expansão em maior escala. O clima predominante na região é o Cwa, mesotérmico com inverno seco, segundo a classificação Koppen. A temperatura média anual é de 21,9°C, variando 17,8°C no mês mais frio (julho) a 24,9°C no mês mais quente (janeiro), com uma pluviosidade média de 1.458,9 mm, sendo que 1.128,4 mm se concentram nos meses mais chuvosos, de outubro a maio, e 330,5 mm nos meses mais secos, de abril a setembro.

Os dados foram coletados em três áreas (tratamentos): (i) SAF frutas\madeira, (ii) pasto e (iii) mata (fragmento florestal em processo natural de regeneração). A coleta de solo realizada no terceiro semestre de 2018 em trincheiras nas camadas em profundidades 0-0,4 m, 0,4 a 0,8 m e 0,8 a 1,0 metro para cada tratamento com cinco repetições. Os tratamentos estão em uma mesma região com mesmo tipo de solo, classificado como Neossolo Quartzarênico, de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solo (EMBRAPA, 2013) com textura arenosa, o qual correlaciona ao Entisols Quartzipsamments conforme a Soil Taxonomy (SOIL SURVEY STAFF, 2014).

Segundo Andreola et al. (2000), o solo mantido em estado natural com vegetação nativa, apresenta características físicas como estrutura, permeabilidade, densidade e porosidade do solo apropriadas ao desenvolvimento das plantas. Nesta pesquisa o solo de vegetação nativa serve como referência comparativa com outros sistemas manejados.

Segundo Marçal (2018), o SAF foi inicialmente desenhado para produção de frutíferas e madeira, implantado no mês de junho de 2014 (Acacia mangium, Eucalyptus sp. e banana), com introdução de frutíferas (citros e manga) em dezembro de 2014. As leiras de 1,2 m de largura são espaçadas 5,0 m entre si. As entrelinhas foram introduzidas por capim marandu que é roçado 5 vezes ao ano com roçadeira “sega-pasto” da marca Casale, seguidas por roçada com roçadeira costal para

repasso do trabalho. O enleiramento do capim roçado para a linha de árvores foi realizado 4 vezes ao ano utilizando-se equipamento da marca Kuhn e a capina manual nas leiras realizada 3 vezes ao ano. A desrama do eucalipto com serra manual foi realizada 5 vezes durante os primeiros 18 meses e a poda apical dos mesmos foi feita em julho de 2016. Esse sistema recebeu adubação complementar com 2,0 t ha<sup>-1</sup> de composto orgânico em outubro de 2015 e 0,5 t ha<sup>-1</sup> de torta de mamona em fevereiro de 2016, ambos aplicados nos pés das frutíferas. Ocupa uma área total de 5,2 ha. Os citros foram erradicados e o foi introduzida à jabuticaba. As bananas são podadas e servem como biomassa que, juntamente com o eucalipto, são as principais fontes de material orgânico para o solo.

No desenho do SAF de frutas da Fazenda da Toca também temos o *Eucalyptus* sp. como fonte de biomassa rica em carbono que merece avaliação. Há casos em que é considerado com comportamento agressivo deste gênero e poderia exercer influência negativa sobre os recursos hídricos (CASTRO; CASTRO, 2015), além de ser uma planta exótica. Todavia é inegável que quando o objetivo é a produção de biomassa em curto prazo, realizando o manejo com as podas periódicas dos seus ramos, a planta é capaz de fornecer, a partir do segundo ano de plantio, uma qualidade e quantidade de material de cobertura diferenciados, mais rico em lignina, além da possibilidade de produção comercial de madeira em médio prazo.

As técnicas de análise granulométricas utilizadas neste estudo: o método da pipeta empregando terra fina seca ao ar com solução de Hidróxido de Sódio 0,1 (NaOH) com agente dispersante (CAMARGO et al., 2009) e o equipamento “Analisador Granulométrico desenvolvido na Embrapa Instrumentação este método (VAZ et al., 1992) (Figura 1). Assim determinadas as frações de argila, silte e areia do solo, baseados na atenuação de um feixe de raios gama (Lei de Beer-Lambert) e no princípio da sedimentação de partículas em um meio líquido (Lei de Stokes) (VAZ et al. 1996).

O preparo das amostras seguiu o procedimento descrito por Vaz et al. (1997). Inicialmente o solo seco em estufa por 24h a uma temperatura de 105 °C para a medida de valores do coeficiente de atenuação em massa através de cubetas para todas as amostras. Às amostras pesadas 40 gramas de solo adicionou-se hidróxido de sódio (NaOH) como dispersante na solução com água destilada sendo agitada por 16 horas no agitador do tipo Wagner. Após esta etapa levou-se as cubetas retangulares de acrílico ou policarbonato ao equipamento para análise por raios gama, onde cada repetição levou em torno de 23 minutos para serem obtidas as informações pelo analisador (figura 1 à esquerda). Após esta etapa, para obter resultados relativos às frações granulométricas observando os diâmetros de 2 µm (argila), 2-50 µm (silte) e 50-2000 µm (areia). Análise final dos dados, gráficos utilizando o software Origin (versão 9.0) foi obtida como apresentado na figura 1.

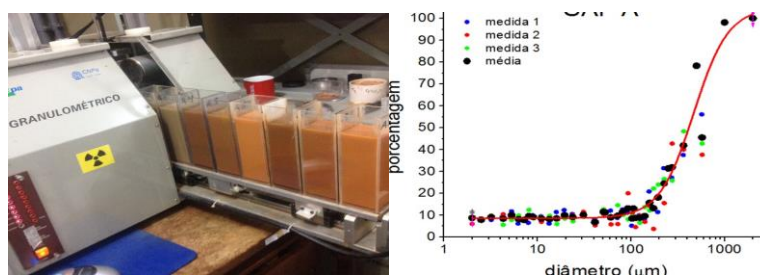


Figura 1. Analisador granulométrico da Embrapa com cubetas de solos da Fazenda da Toca (à esquerda) e resultado da granulometria do SAF de 0-40 cm (porcentagem acumulada versus diâmetro das partículas) (à direita).

### 3. Resultados e Discussão

A análise dos dados da granulometria dos solos permite verificar a predominância da fração areia em todos os tratamentos e profundidades das áreas avaliadas neste estudo. A fração areia manteve-se sempre superior a 89%, constituindo assim uma limitação física evidente para o manejo sustentável e um desafio para a manutenção de nutrientes e por consequência também o carbono no solo. Por apresentar um teor muito limitante de partículas mais finas aumenta assim o risco com perdas de nutrientes.



O teor de argila no solo da mata sofre decréscimo de 6,7% na camada 0,0-0,4 m, tem 5,0% de 0,4-0,8m chegando a 3,4 % de argila na camada de 0,8-1,0 m (tabela 1). No SAF manteve-se em 8,2 % o teor de argila de 0,0 a 0,8 m e 10% na camada de 0,8-1,0 m. No pasto temos 2,6% na camada de 0,0 a 0,4 m com ligeiro aumento no teor da argila para 4,6% na camada de 0,4-0,8 m chegando a 4,8% na camada de 0,8-1,0 m.

Tabela 1. Valores médios referentes às frações de argila, silte e areia determinados no analisador granulométrico nos diferentes tratamentos (Mata, SAF e Pasto em três profundidades).

Tratamento	Profundidade (m)	Argila	Silte	Areia
		g kg <sup>-1</sup>		
Mata	0,0-0,4	67	8	925
Mata	0,4-0,8	50	8	942
Mata	0,8-1,0	34	21	945
SAF	0,0-0,4	82	17	901
SAF	0,4-0,8	82	2	916
SAF	0,8-1,0	100	10	890
Pasto	0,0-0,4	26	6	968
Pasto	0,4-0,8	46	2	952
Pasto	0,8-1,0	48	3	949

De uma forma geral, áreas com teor muito baixo de argila, assim como estas do estudo, são muito limitantes para utilização agrícola ou pecuária. Locais arenosos por serem mais frágeis e suscetíveis à degradação, normalmente são indicados para a composição de reserva legal ao nível da propriedade rural.

Para efeito comparativo com os resultados de granulometria obtidos por Marçal (2018) com o método da pipeta com a coleta realizada em junho de 2016 apresentado na tabela 2.

Tabela 2. Valores médios referentes às frações de argila, silte e areia determinados pelo método da pipeta nos diferentes tratamentos (Mata, SAF e Pasto)

Tratamento	Argila	Silte	Areia
	g kg <sup>-1</sup>		
Mata	50	13	937
SAF	85	27	888
Pasto	37	10	953

Os resultados obtidos pelo método da pipeta e com o analisador granulométrico não apresentam divergências expressivas. O teor de silte no SAF apresenta maior divergência entre as técnicas. Vale ressaltar que o objetivo deste estudo é entender e aprofundar os processos que ocorrem nas camadas de solos correlacionando com a dinâmica e estabilidade do carbono obtendo informações em outras etapas da pesquisa que envolve análise elementar e técnicas espectroscópicas. O entendimento em profundidade das condições físicas é condição que fundamenta o seu avanço.

A textura apresentada nestes solos com predominância de areia é associada normalmente a macroporos sem limitação para a infiltração e absorção da água das chuvas.

#### 4. Conclusões

Os resultados granulométricos evidenciam a limitação física de áreas com solo intensamente arenoso com teores obtidos no analisador granulométrico sempre superior a 89%; caracterizado no local o desafio de buscar uma agricultura com manejo eficiente do ponto de vista dos serviços

ambientais que seja capaz de sequestrar e fixar o carbono no solo.

Nota-se que o teor de argila no SAF um pouco superiores aos encontrados nas áreas de mata e pasto; isso pode indicar que o manejo realizado no SAF pode contribuir para melhoria das condições físicas do solo.

Os resultados granulométricos comparativos nas técnicas da pipeta e com o analisador granulométrico não apresentaram mudanças expressivas. Pode-se concluir que os dois métodos são eficazes para caracterização física do solo, com destaque para o analisador por conseguir um resultado com rapidez e eficiência.

### **Agradecimentos**

A CAPES pelo financiamento inicial com a bolsa para pesquisa. Aos técnicos e pesquisadores da Embrapa Instrumentação e da Fazenda da Toca que se envolveram com a pesquisa. A orientação do Silvio Crestana sempre presente desde os primórdios deste estudo. A todos eu agradeço.

### **Referências**

- ANDREOLA, F.; COSTA, L. M.; OLSZEWSKI, N. Influência da cobertura vegetal de inverno e da adubação orgânica e, ou, mineral sobre as propriedades físicas de uma Terra Roxa Estruturada. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v.24, n.4, p.857-865, 2000.
- ASSAD, E. D.; PINTO, H. S.; MARTINS, S. C.; GROppo, J. D.; SALGADO, P. R.; EVANGELISTA, B.; VASCONCELLOS, E.; SANO, E. E.; PAVÃO, E.; LUNA, R.; CAMARGO, P. B.; MARTINELLI, L. A. 2013. Changes in soil carbon stocks in Brazil due to land use: paired site comparisons and a regional pasture soil survey. *Biogeosciences*, v. 10, n. 10, p. 6141-6160, 2013. Doi:10.5194/bg-10-6141-2013.
- CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física de Solos do Instituto Agronômico de Campinas. Campinas: Instituto Agronômico, 2009, 77 p. (Boletim Técnico 106, Edição revista e atualizada).
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3 ed. Brasília: Embrapa Solos, 2013. 353 p.
- GLIESSMAN, S. R; **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 3ª ed. Porto Alegre: Editora da Universidade, 2009. 658 p.
- PEJON, O.J.; ZUQUETE, L.V.; AUGUSTO FILHO, O.; Geologia e Solos. In: CALIJURI, M.C.; D.G.F.; Engenharia ambiental: Conceitos, Tecnologia e Gestão. Rio de Janeiro. Elsevier.213.
- PINTO, H. S.; ASSAD, E. D.; MARTINS, S.; GROppo, J.; EVANGELISTA, B. A.; PAVÃO, E. 2013. Contabilidade e monitoramento das emissões de carbono na agricultura: mitigando mudanças climáticas no setor agrícola: sumário executivo. Campinas: Unicamp: Embrapa Informática Agropecuária.
- SOIL SURVEY STAFF. Keys to Soil Taxonomy. 12ed. United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, Washington, DC, 2014.
- VAZ, C. M. P.; NAIME, J.M.; SILVA, A.M.; MELLO, S. Análise granulométrica por raios gama. São Carlos: EMBRAPA-CNPDIA,1997.13p.
- VAZ, C. M. P.; OLIVEIRA, J.C. M.; REICHARDT, K.; CRESTANA, S.; CRUVINEL, P. E.; BACCHI, O. O. S. Soil mechanical analysis through gamma ray attenuation. **Soil Technology**, Cremlingen, v.5, p.319-325, 1992.
- VAZ,C., NAIME, J., & SILVA, A.(1996). Comunicado Técnico N5. EMBRAPA, São Carlos.
- MARÇAL, M. F. M. Qualidade do solo em sistemas agroflorestais desenvolvidos para produção em larga escala. – Campinas, SP : [s.n.], 2018. 98p. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola.

**IDENTIFICAÇÃO DE MILHO TRANSGÊNICO POR ANÁLISE DISCRIMINANTE  
LINEAR E ESPECTROSCOPIA RAMAN**

S. R. Dib<sup>1,\*</sup>, T. V. Silva<sup>2</sup>, J. A. Gomes Neto<sup>1</sup>, L. J. M. Guimarães<sup>3</sup>, E. J. Ferreira<sup>4</sup>, E. C. Ferreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista, Av. Prof. Francisco Degni, 55, 14800-900, Araraquara, SP

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia, Km 445, 86057-970 Londrina, PR

<sup>3</sup> Embrapa Milho e Sorgo, Rod MG 424, Km 45, 35701-970, Sete Lagos, MG

<sup>4</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: rdib.samia@gmail.com

**Resumo:** O milho é um dos principais ingredientes energéticos utilizado na nutrição animal e humana, por ser uma fonte barata de carboidratos, proteínas e óleos. Com a finalidade de produção de novas espécies com maior resistência às pragas, insetos e herbicidas, a matriz genética tem sido modificada em laboratório, resultando em produtos transgênicos. A biotecnologia moderna tem possibilitado grande número de genes passíveis de utilização na melhoria genética do milho. No entanto, ainda existem dúvidas de diversas naturezas com relação ao emprego e segurança dessa tecnologia. Nesse contexto, faz-se importante a implementação de métodos para identificação de sementes de milho produzidas e ofertadas no mercado. A maioria dos métodos para a detecção de organismos geneticamente modificados são baseados em reação em cadeia da polimerase (PCR), um método complexo e de alto custo que demanda a extração do material genético para análise. Técnicas espectrais não destrutivas têm demonstrado potencial para a referida finalidade. Neste sentido, a espectroscopia Raman e ferramentas quimiométricas foram utilizadas para o desenvolvimento de um método de classificação de milho transgênico e convencional. Os resultados obtidos mostraram que proteínas e carboidratos são importantes à discriminação de classes. O modelo baseado em LDA (Linear Discriminant Analysis), apresentou exatidão satisfatória, com baixo erro e alta precisão.

**Palavras-chave:** milho transgênico, classificação, espectroscopia raman

**IDENTIFICATION TRANSGENIC CORN BY LINEAR DISCRIMINANT ANALYSIS AND  
RAMAN SPECTROSCOPY**

**Abstract:** Corn is one of the main energy ingredients used in animal and human nutrition as it is a cheap source of carbohydrates, proteins and oils. In order to produce new species with greater resistance to pests, insects and herbicides, the genetic matrix has been modified in the laboratory, resulting in transgenic products. Modern biotechnology has enabled a large number of genes that can be used to improve maize genetics. However, there are still several doubts regarding the use and safety of this technology. In this context, it is important to implement methods to identify maize seeds produced and offered in the market. Most methods for detecting genetically modified organisms are based on polymerase chain reaction (PCR), a complex and costly method that requires extraction of genetic material for analysis. Non-destructive spectral techniques have shown potential for this purpose. In this sense, Raman spectroscopy and chemometric tools were used for the development of a transgenic and conventional corn classification method. The results showed that proteins and carbohydrates are important to class discrimination. The Linear Discriminant Analysis (LDA) model presented satisfactory accuracy, low error and high precision.

**Keywords:** transgenic corn, classification, Raman spectroscopy

**1. Introdução**

O milho é um dos principais ingredientes energéticos utilizado na nutrição animal e humana. Trata-se de uma fonte de baixo custo para obtenção de carboidratos, proteínas, ferro e outros minerais (NUSS; TANUMIHARDJO, 2010). Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados

Unidos (USDA), a projeção de safra mundial de milho para o ciclo 2019/2020 será de 1,12 bilhão de toneladas (FIESP, 2019). Com a finalidade de produção de novas espécies com maior resistência a pragas, insetos e herbicidas específicos e também com alguma característica nutricional aprimorada ou mesmo ausência de compostos alergênicos, o milho pode ter sua composição genética modificada (CORUJO et al., 2019).

De acordo com o Serviço Internacional para Aquisição de Aplicações Agro-biotecnológicas (ISAA), a aplicação de Organismos Geneticamente Modificados (OGM) tem crescido na agricultura. Vinte e seis países plantaram 191,7 milhões de hectares de culturas biotecnológicas, o que acrescentou 1,9 milhão de hectares ao recorde de plantios em 2017. Os países com a maior área de culturas biotecnológicas plantadas são os EUA, Brasil, Argentina, Canadá e Índia e são responsáveis coletivamente, de 91% da área global total de culturas biotecnológicas (ISAA, 2019).

Apesar das vantagens, o uso de OGM em alimentos não é aceito em alguns países. A caracterização das amostras de milho é, portanto, um desafio científico e tecnológico premente na agroindústria de alimentos. Portanto, uma tecnologia de identificação de produtos geneticamente modificados (GM) e suas matérias-primas é considerada importante para garantir a segurança alimentar dos consumidores.

Atualmente, os métodos de detecção mais comuns são: reação em cadeia da polimerase (PCR) (WANG et al., 2014), transferência de ácido nucleico (manchas de Southern) (SOUTHERN, 1975), espectrometria de massa (OCAÑA et al., 2007C), perfis cromatográficos de proteínas, além da eletroforese (GARCÍA et al., 2009).

Em geral, os referidos métodos apresentam alta especificidade e sensibilidade. Contudo, geralmente possuem alto custo por análise e há morosidade de detecção. Recentemente, técnicas espectrais não destrutivas como a espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) (LUNA, et al., 2010), imagens multiespectrais (LIU et al., 2016), espectroscopia terahertz (LIU et al., 2016) e a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) (LIU et al., 2019) associadas a métodos quimiométricos têm demonstrado relativo sucesso na rápida identificação de culturas GM.

A espectroscopia Raman é uma alternativa promissora, capaz de irradiar uma amostra em um comprimento de onda específico (monocromático) com um laser, por exemplo. Uma fração dessa radiação sofre espalhamento inelástico e as pequenas diferenças de energia entre a radiação incidente e espalhada são transformadas em números de onda, dando origem ao denominado espectro Raman capaz de caracterizar algumas moléculas presentes no material (SMITH; DENT, 2005). Assim, a espectroscopia Raman fornece informações relevantes à detecção e diferenciação de amostras biológicas. Recentemente algumas aplicações da técnica associada a modelos multivariados em amostras de milho foram estudadas, tais como para avaliar qualidade de grãos de milho saudáveis ou com a presença de fungos *Aspergillus flavus* (FARBER, 2018) e avaliar a composição de milho amarelo e roxo por meio da presença da amilose/amilopectina (ILDIZ et al., 2019). Nesse escopo de pesquisa, o presente trabalho investigou o potencial da espectroscopia Raman para diferenciar sementes de milhos convencionais e transgênicos.

## 2. Materiais e Métodos

Amostras de sementes de híbridos experimentais simples da tecnologia VT PRO, possuindo três transgenes cry1A.105 + cry2Ab2 e c4epsps, responsáveis pela resistência a lagartas e tolerância ao herbicida glifosato foram fornecidas pela Embrapa Milho e Sorgo de Sete Lagoas - MG. O conjunto de amostras compreende 14 amostras convencionais e 14 geneticamente modificadas (pareadas).

Inicialmente, foram tomadas aleatoriamente 10 sementes de cada amostra, as quais foram individualmente homogeneizadas em um moinho criogênico. Após a moagem, as sementes foram convertidas em pastilhas e os espectros Raman foram adquiridos utilizando um espectrômetro (iRaman BWS415-785H (B&W Tek)) com fonte de excitação de 785 nm (potência < 350 mW) e resolução espectral de 3,5 cm<sup>-1</sup>.

Antes da aquisição espectral foram otimizados os parâmetros instrumentais: tempo de integração, potência do laser (%) e o número de espectros a ser tomado em cada ponto de medida (n). Após a otimização, os espectros foram capturados em 5 diferentes regiões das pastilhas, sendo  $n=50$ , tempo de integração 10s e potência do laser 90%. Os espectros foram pré-processados individualmente no MATLAB® (R2010a) com PLS Toolbox. Aplicou-se o filtro Savitzky-Golay, utilizando um polinômio de 2ª ordem e uma janela de 15 pontos. Em seguida foi realizada a correção da linha de base utilizando a função *Whittaker filter* e por último os espectros foram normalizados pela banda  $1456\text{ cm}^{-1}$ .

Para o propósito de comparação das médias, *teste t de student* foi aplicado nos valores de intensidades máximas de cada banda espectral identificada entre os pares transgênicos e convencionais. Para a construção do modelo de predição para sementes de milho transgênico e convencionais por LDA (Linear Discriminant Analysis), as amostras do conjunto de calibração foram compostas de 80% e de validação 20% do total das amostras.

Considerando apenas as amostras do conjunto de calibração e a partir das variáveis selecionadas pelo *teste t de student*, foi aplicada uma nova seleção de variáveis utilizando o algoritmo computacional Wrapper, auxiliado pela seleção sequencial para trás (Backward Selection) para selecionar as variáveis a partir do conjunto das 27 variáveis, previamente selecionadas pelo teste estatístico. Tanto o modelo de classificação, quanto a metaheurística utilizada para a seleção de variáveis foram empregadas por meio do software WEKA.

### 3. Resultados e Discussão

Os espectros das 280 pastilhas sendo estas 140 referentes a classe dos grãos transgênicos e 140 referentes aos convencionais, foram adquiridos utilizando as condições otimizadas, o pré-processamento descrito foi aplicado e as bandas presentes nos espectros Raman das amostras de milho foram identificadas.

Na referida região, os espectros das duas classes apresentaram aspectos semelhantes em relação aos compostos químicos presentes. As atribuições das bandas foram realizadas de acordo com a literatura (ILDIZ et al., 2019, FARBER, 2018) majoritariamente os espectros são caracterizados por bandas de espalhamento associadas a presença de carboidratos ( $302, 357, 399, 476, 575, 712, 771, 852, 934, 1000, 1026, 1079, 1121, 1152, 1259, 1333, 1380, 1395$  e  $1458\text{ cm}^{-1}$ ), proteínas ( $523$  e  $1655\text{ cm}^{-1}$ ), lignina ( $1593$  e  $1628\text{ cm}^{-1}$ ) e carotenoides ( $1000, 1518$  e  $1550\text{ cm}^{-1}$ ).

Após o estudo sistemático das atribuições das bandas, observou-se a presença das mesmas em ambas as classes, assim a busca de variáveis para a separação das classes foram feitas por meio da análise dos valores de intensidade máxima para cada banda identificada. Neste sentido, as intensidades foram selecionadas e foram feitos então o cálculo das médias e desvio padrão para cada amostra. Visando melhor avaliar as diferenças entre as médias aplicou-se o teste t de student com nível de significância de 5%. Os resultados obtidos mostraram que para todas as bandas identificadas pelo menos um par (transgênico e convencional) resultou em diferença estatística significativa. No entanto, algumas bandas como  $302\text{ cm}^{-1}$  (amilose, amilopectina, modos esqueléticos do anel piranose),  $476\text{ cm}^{-1}$  (deformações CCO e CCC),  $1043\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{C}=\text{C}-$  no plano) e  $1121\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{C-O}) + \nu(\text{C-C}) + \delta(\text{C-O-H})$ ) foram as bandas que apresentaram maior probabilidade de distinção entre todos os pares (transgênicos e convencionais) de acordo com a diferença estatística entre as médias.

Em seguida, foi aplicada a abordagem Wrapper com *Backward Selection* (conjunto das amostras de calibração). A Tabela 1 descreve as variáveis selecionadas.

De acordo com a Tabela 1, apenas 10 variáveis foram empregadas para o desenvolvimento do modelo. Vale destacar que as atribuições das bandas selecionadas são referentes a presença de proteínas e carboidratos, sendo tais compostos importantes para diferenciar as classes de milho transgênico e milho convencional.

Assim, a partir das variáveis selecionadas, o modelo baseado na análise de discriminantes lineares (LDA) para predição das classes foi desenvolvido. O modelo proposto foi avaliado por meio

do conjunto de validação e as respectivas figuras de mérito encontram-se na Tabela 2.

Tabela 1. Variáveis selecionadas por *Wrapper* para a construção do modelo de predição de sementes de milho transgênico e convencional.

Variáveis selecionadas (cm <sup>-1</sup> )	Modo vibracional	Atribuições
357	amilose, amilopectina, modos esqueléticos do anel piranose	Carboidratos
476	deformações CCO e CCC	Carboidratos
523	S-S gauche-gauche-trans	Proteínas
619	δ(C-C-O)	Carboidratos
712	δ(C-C-O) deformações esqueléticas do anel glicosídico	Carboidratos
852	δ(C-C-H) + δ(C-O-C), ligação glicosídica, região anomérica	Carboidratos
1026	δ (C-OH)	Carboidratos
1043	δ (C-OH)	Carboidratos
1333	ν(C-O); δ(C-O-H)	Carboidratos
1395	δ(C-C-H)	Carboidratos
1655	ν(C=O) (Amida I)	Proteínas

δ = flexão ou deformação angular; ν = estiramento

Tabela 2. Resultados estatísticos do LDA obtido para o modelo de predição das sementes.

	RMSEC	RMSEP	Taxa de acerto
<b>Modelo 1</b>	0.3189	0.4246	75 %

RMSEC = raiz quadrada do erro médio quadrático de calibração; RMSEP = raiz quadrada do erro médio quadrático de predição

Analisando os resultados obtidos, observa-se que para o modelo desenvolvido o  $R^2=0,9$ , os valores de RMSEC e RMSEP foram relativamente baixos e a taxa de acerto do modelo para o conjunto de validação foi de 75 %. Dessa maneira o modelo ajustado para a predição de sementes de milho transgênicos e convencionais se enquadraram nos parâmetros de um modelo satisfatório.

#### 4. Conclusões

Os estudos sobre a capacidade da espectroscopia Raman para distinção de sementes de milho transgênico e convencional indicou potencial para técnica. A composição orgânica das amostras de milho sugere que proteínas e carboidratos são importantes para a discriminação das classes. O modelo gerado para predição de sementes de milho transgênico e convencional apresentou parâmetros satisfatórios.

#### Agradecimentos

Cnpq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e Embrapa Milho e Sorgo.

#### Referências

- CORUJO, M. et al. Use of omics analytical methods in the study of genetically modified maize varieties tested in 90 days feeding trials. *Food Chemistry*, v. 292, p.359 - 37, 2019.
- FARBER, C.; Kurouski, D. Detection and Identification of Plant Pathogens on Maize Kernels with a Hand-Held Raman Spectrometer. *Anal. Chem*, v. 90, p. 3009-3012, 2018
- FIESP - Federação das Indústrias do Estado de São Paulo - Nota: 5º levantamento USDA da safra 2019/20 - Setembro/19. Disponível em: < <https://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/attachment/file-20190917152537-boletimmilhosetembro2019/>>. Acesso em: 18 set. 2019.
- GARCÍA, C. et al. Rapid characterization of (glyphosate tolerant) transgenic and non-transgenic soybeans using chromatographic protein profiles. *Food Chem*, v.113, p.1212-1217, 2009.
- ILDIZ, G. O. et al. A comparative study of the yellow dent and purple flint maize kernel components by Raman spectroscopy and chemometrics. *Journal of Molecular Structure*, v.1184,

p. 246 - 253, 2019.

ISAA- International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications – Disponível em: <  
<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/54/>> Acesso em: 18 set. 2019.

LIU, C. et al. Non-destructive discrimination of conventional and glyphosate-resistant soybean seeds and their hybrid descendants using multispectral imaging and chemometric methods. *J. Agric. Sci.* v.154, p. 1–12, 2016.

LIU, X. et al. Rapid identification of genetically modified maize using laser-induced breakdown spectroscopy. *Food. Bioprocess. Tech.*, v.12, p. 347- 357, 2019.

LIU, W. et al. Application of terahertz spectroscopy imaging for discrimination of transgenic rice seeds with chemometrics. *Food Chemistry.* v. 210, p. 415-421, 2016.

LUNA, A. S. et al. Rapid characterization of transgenic and non-transgenic soybean oils by chemometric methods using NIR spectroscopy. *Spectrochim. Acta A.* v. 100, p. 115-119, 2013.

NUSS, E. T.; TANUMIHARDJO, S. S. Maize: A Paramount Staple Crop in the Context of Global Nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* v, 9, p. 417 - 436, 2010.

OCAÑA, M. F. et al. Mass spectrometric detection of CP4 EPSPS in genetically modified soya and maize. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, v. 21, p. 319-328, 2007C.

SMITH, E.; DENT, G. *Modern Raman Spectroscopy - A Practical Approach.* 2005.

SOUTHERN, E. M. Detection of Specific Sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, v. 98, p. 503-517, 1975.

WANG, X. et al. Multiplex event- specific qualitative polymerase chain reaction for detecting three trans- genic rice lines and application of a standard plasmid as a quantitative reference molecule. *Analytical Biochemistry*, v. 464, p.1-8, 2014.

**ANÁLISE DO IMPACTO DA AQUICULTURA NA QUANTIDADE DE CARBONO E NA HUMIFICAÇÃO DO SOLO AO REDOR DOS TANQUES DE CRIAÇÃO**B. A. Gualdani<sup>1,\*</sup>, A. A. P. Xavier<sup>1</sup>, D. M. B. P. Milori<sup>1</sup><sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos - São Paulo**\* Autor correspondente, e-mail: brenogualdani@hotmail.com*

**Resumo:** Considerando o aumento da demanda mundial pela aquicultura, o conhecimento do impacto ambiental desta prática torna-se importante para então preveni-los ou minimizá-los. Este estudo analisa o impacto da cultura de tilápia nos solos ao redor dos tanques de criação, comparando-os com solos de área preservada e degradada das proximidades por meio da composição de carbono e do índice de humificação do solo ( $H_{FIL}$ ) das amostras coletadas. Observa-se a partir dos dados gerados que os tanques possuem determinada influência sobre a composição de C no solo - mas que esta altera-se pela presença de vegetação preservada no entorno. A área de fluorescência, calculada para obter o valor  $H_{FIL}$ , é menor nas áreas mais profundas dos solos dos tanques, havendo portanto impacto no solo pela infiltração da água.

**Palavras-chave:** piscicultura, análise de solo, índice de humificação, espectroscopia de fluorescência induzida por laser

**ANALYSIS OF AQUACULTURE IMPACT ON SOIL CARBON MEASURE AND ON SOIL HUMIFICATION AROUND BREEDING TANKS**

**Abstract:** Considering the world's demand growth for aquaculture, the knowledge of environmental impact of this practice becomes important for its prevention or minimization. This study analysis of tilapia's culture on soil around the breeding tanks, comparing them with soil of a preserved area and a degraded area nearby by the composition of carbon and the soil humification index ( $H_{FIL}$ ) measure of collected samples. It is observed by the data that the tanks have certain influence of C composition on soil - but that it changes by the presence of preserved vegetation on its sides. The fluorescence area, calculated to get the  $H_{FIL}$  value, is smaller on deepest areas of the soil of tanks, so it has impact by water infiltration.

**Keywords:** pisciculture, soil analysis, humification index, laser-induced fluorescence spectroscopy

**1. Introdução**

A aquicultura vem se destacando nas últimas décadas como uma atividade de alta produção de alimentos e que proporciona uma nova perspectiva para o desenvolvimento sustentável mundial. De acordo com o relatório *The State of World Fisheries and Aquaculture* (FAO, 2016), a produção da aquicultura ultrapassou a pesca - sextuplicando sua produção desde o final os anos 80 até 2015- e já responde pela metade do consumo mundial de peixe, mostrando que o modo de produção vem correspondendo às demandas e necessidades mundiais. O Brasil possui alto potencial para o aumento da produção aquícola em seu território, considerando a grande presença de corpos hídricos e sua larga costa litorânea, e pode utilizá-lo como uma ferramenta para o desenvolvimento local brasileiro. Visando o aumento deste tipo de produção no País, faz-se necessário o estudo dos impactos ambientais causados por este, a fim de preveni-los ou mitigá-los, e alinhá-los com a meta 14 dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU: conservar e utilizar de forma sustentável os oceanos e os recursos marinhos (UN, 2015).

A tilápia é a espécie de peixe mais criada no Brasil e sua produção continua a aumentar. De acordo com Siqueira (2018), a produção de tilápia alcançou 239 milhões de toneladas, em 2016, experimentando um aumento de 9% em relação a 2015, enquanto o valor de produção somou R\$



1,335 bilhão e alcançou crescimento de 13,4% em relação a 2015. Este estudo propõe, para tanto, analisar quanto a aquicultura afeta no teor de carbono do solo ao redor de tanques de criação de tilápia e analisar também o índice  $H_{FIL}$  nas mesmas amostras coletadas

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Área experimental

As amostras de solo foram coletadas no Sítio São João em São Carlos – SP (22°09'16.4"L 47°50'45.3"O), ao redor de dois tanques de criação de tilápia. Os tanques foram escavados e possuem aproximadamente 1,5 metros de profundidade, sendo o primeiro recoberto por uma camada impermeável e o segundo em contato direto com o solo. As amostras são de duas profundidades diferentes: superfície (0-10 cm) e profundidade (20-30 cm). Foram definidos 18 pontos ao redor dos tanques de criação, denominados tanque 1 (T1) e tanque 2 (T2); mais dois pontos localizados numa área de mata preservada (AP) próxima aos tanques; e mais dois pontos numa área degradada de solo exposto (AD) também próxima aos tanques, para fins comparativos.

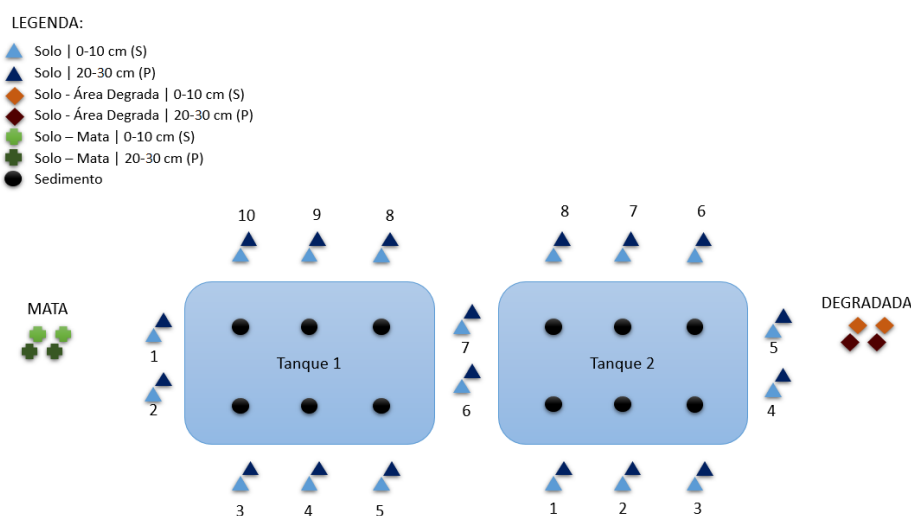


Figura 1. Esquemática dos pontos de coleta de amostras ao redor dos tanques de aquicultura.

Após a coleta das amostras, o material foi tratado em laboratório. As amostras foram congeladas e liofilizadas para a remoção da água existente no material. Após a liofilização, o material foi submetido a moagem manual, com a utilização de pistilo e almofariz, padronizando os grãos para a granulometria de 100 mesh. As amostras padronizadas foram prensadas, utilizando-se da prensa hidráulica, formando as pastilhas de aproximadamente 0,5 gramas.

### 2.2. Análise do índice de humificação do solo

De acordo com Milori (2006),  $H_{FIL}$  é um indicador de humificação do solo e é obtido por meio da divisão da área de fluorescência (AF) do material pelo teor de carbono (C) do mesmo. O primeiro foi obtido pela utilização da técnica LIFS, enquanto o segundo por meio de análise elementar.

A técnica fotônica Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy (LIFS) trabalha com um laser de diodo emitindo a 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 material. O laser excita os grupos funcionais da matéria orgânica, ocorrendo excitação em grupos fluoróforos. O resultado da interação do material orgânico com o laser será a fluorescência de grupos funcionais da matéria orgânica relacionados com o processo de humificação, gerando-se espectros.

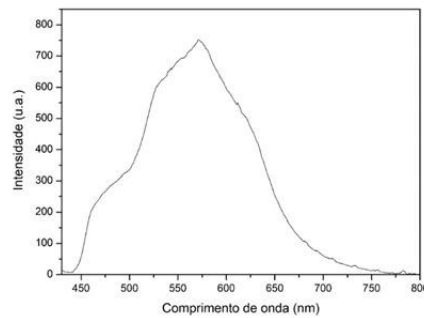


Figura 2. Exemplo de espectro obtido por Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

Foram obtidos 5 espectros por amostra: um espectro por face de cada uma das duas pastilhas confeccionadas, e mais um espectro extra a partir da medição repetida de uma face aleatória. Calculou-se a área média dos espectros de fluorescência gerados para cada amostra e este valor foi dividido pelo teor de carbono no material da amostra, obtendo-se o valor final da humificação ( $H_{FIL}$ ). Para análises de C utilizou-se a análise elementar (CHN/S), depositando cerca de 10 mg de material em cápsulas de estanho.

Para efeito de comparação, geraram-se gráficos com os valores de AF, C e  $H_{FIL}$  de cada área tanto em superfície, quanto em profundidade.

### 3. Resultados e Discussão

É possível observar nos gráficos de área de fluorescência média (Figuras 3 e 4) que a área preservada se destacou das demais, que exibiram certa semelhança principalmente quanto à superfície. Os valores mais baixos quanto à profundidade pode nos mostrar a influência da água infiltrada no local na diminuição dos valores obtidos.

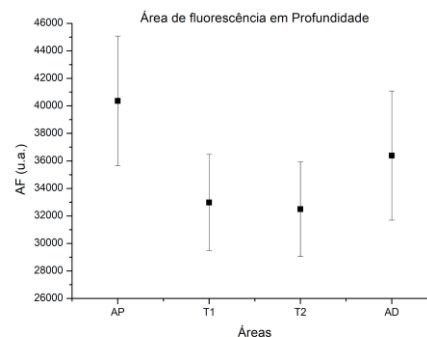
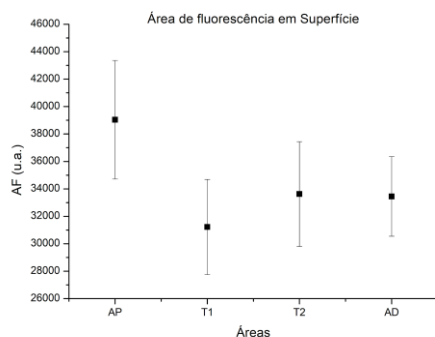


Figura 3. Fluorescência do solo em Superfície    Figura 4. Fluorescência do solo em Profundidade

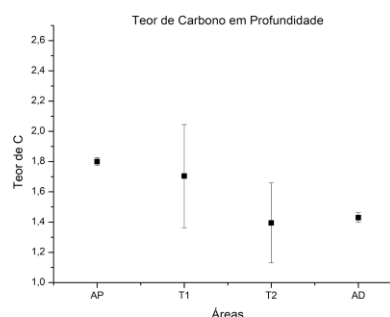
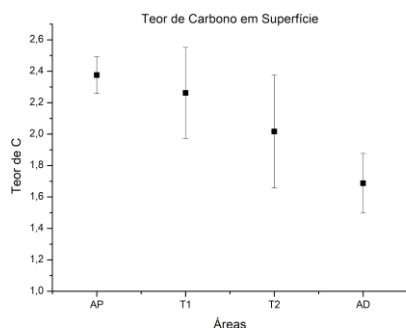


Figura 5. Teor de Carbono em Superfície    Figura 6. Teor de Carbono em Profundidade

O teor de carbono no solo decaiu conforme se afastou da área preservada, mostrando que a vegetação presente exerce influência na quantidade de matéria orgânica no solo de acordo com sua proximidade.

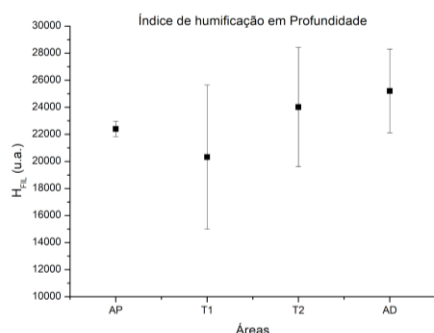


Figura 7. H<sub>FIL</sub> do solo em Superfície

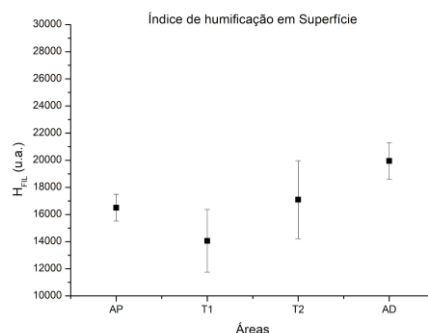


Figura 8. H<sub>FIL</sub> do solo em Profundidade

O índice de humificação (H<sub>FIL</sub>) cresceu da área preservada conforme segue em direção à área degradada, com exceção de uma queda no valor do tanque 1. Esta queda deve ser melhor estudada, conferindo os fatores que podem ter influenciado neste resultado.

Nota-se que os resultados são mais facilmente observados quando em superfície, mostrando que esta camada do solo foi a mais afetada pelos fatores atuantes.

#### 4. Conclusões

O crescimento do valor de humificação (H<sub>FIL</sub>) ocorreu devido a maior condensação de matéria orgânica no solo degradado, em relação ao solo de mata preservada.

O teor de carbono diminuiu, pois na área preservada houve maior entrada de matéria orgânica fresca, enquanto que na área degradada o Carbono presente foi em sua maior parte o carbono humificado.

A influência dos tanques de criação pode ser mais notada quanto à área de fluorescência em profundidade. Entretanto, os tanques também diferenciam-se entre si, com o tanque 2 obtendo resultados mais próximos à área degradada. Estes resultados devem ser causados pela influência da área preservada no tanque 1 ou por outros fatores relativos às características dos tanques, como o fato de T1 possuir uma camada impermeabilizante.

Os tanques, portanto, exercem influência nos valores de carbono e de H<sub>FIL</sub> dos solos, influência esta que também é induzida pela proximidade a uma área preservada ou degradada em suas proximidades. Sugere-se que, a partir deste estudo, novas análises sejam feitas, considerando os sedimentos existentes nos tanques e medidas elementares para um conhecimento mais específico dos impactos da aquicultura no solo, além de também analisar fatores quanto ao histórico do local e dos tanques, determinando assim os demais fatores que podem influenciar neste impacto.

#### Agradecimentos

Agradecemos às instituições CNPq, BNDES e Embrapa, que financiaram este estudo e o projeto ao qual está inserido. Também agradecemos aos técnicos e ao corpo administrativo da Embrapa que disponibilizaram de seus esforços para contribuir no andamento do trabalho.

#### Referências

- FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. The state of world fisheries and aquaculture. Rome, 2016. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>> . Acesso em: 03 set. 2019.
- MILORI, Débora Marcondes Bastos Pereira et al. Organic matter study of whole soil samples using laser-induced fluorescence spectroscopy. Soil Science Society of America Journal, v. 70, n. 1, p. 57-63, 2006.
- SIQUEIRA, Tagore Villarim de. Aquicultura: a nova fronteira para produção de alimentos de forma sustentável. Revista do BNDES, Rio de Janeiro, v.25, n.49, p. 119-170, jun. 2018
- UN – UNITED NATIONS. 2030 Agenda for sustainable development. Sustainable Development Goal 14. General Assembly on 25 September 2015. Disponível em: <<https://sustainabledevelopment.un.org/hlpf>> . Acesso em: 03 set. 2019.

**INVESTIGAÇÕES INICIAIS DO "E-NOSE" NO ESTRESSE HÍDRICO DA SOJA,  
RESULTADOS COMPARATIVO COM MEDIDAS DE CO<sub>2</sub> E UMIDADE RELATIVA (%).**

P. S. de P. Herrmann<sup>1,\*</sup>, A. T. Neto<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua XV de novembro, 1452, CEP 13560-741, São Carlos, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: paulo.herrmann@embrapa.br*

**Resumo:** Os novos métodos não invasivos de fenotipagem de plantas são considerados o avanço na área, bem como sua inserção no melhoramento de plantas. Nesse sentido, o desenvolvimento de novos sensores e novas metodologias é de fundamental importância. Este trabalho apresenta estudos iniciais, com o nariz eletrônico ("E-Nose"), nesta nova área. A técnica busca emular a estrutura de um nariz humano. A intensidade da emissão pela soja quando submetida ao estresse hídrico, sob condições controladas de laboratório, foi avaliada. Um "E-nose" comercial foi utilizado para este experimento e foi construída uma câmara de gás dedicada, e instrumentada com sensores de umidade relativa (%), temperatura (° C), sensor de CO<sub>2</sub> (ppm) para obtenção de informações no período de estresse da soja. Um padrão de respiração foi observado, inicialmente caracterizado por uma baixa produção de CO<sub>2</sub> ou absorção de oxigênio, seguido de uma elevação repentina, apresentada por um maior nivelamento e, finalmente, um declínio. Comparação da resposta de todos esses sensores com o "E-nose" foi realizada. Resultados preliminares mostram a sensibilidade do conjunto de sensores para o volume a ser medido, bem como a potencialidade no uso da técnica com a câmara instrumentada. Investigações futuras usando soja serão realizadas em condições controladas pelo ambiente, principalmente e a mineração de dados.

**Palavras-chave:** "e-nose", soja, estresse hídrico, fenotipagem não-invasiva.

***INITIAL INVESTIGATION USING ELECTRONIC NOSE ON SOYBEAN WATER STRESS,  
COMPARATIVE RESULTS WITH CO<sub>2</sub> AND RELATIVE HUMIDITY MEASUREMENTS.***

**Abstract:** New noninvasive methods of plant phenotyping are a breakthrough in the area, as well as their insertion in plant breeding. In this sense, the development of new sensors and new methodologies is considered of fundamental importance. This paper presents recent studies with the electronic nose in this new area. A technical aims to emulate the structure of a human nose. The intensity of emission by soybeans when subjected to water stress conditions under controlled laboratory was evaluated. A commercial "E-nose" was used for this experiment and a dedicated gas chamber was constructed, and instrumented with relative percentage (%), temperature (° C) and CO<sub>2</sub> sensor sensors for use in the stress period. A breathing pattern was observed, initially characterized by low CO<sub>2</sub> (ppm) production or oxygen uptake, followed by a sudden rise, shown by a higher levelling and finally a decline. Comparison of the response of all these sensors with the E-nose was performed. Preliminary results show the sensitivity of the sensor array to the volume to be measured, as well as the potentiality of using the technique with the instrumented chamber. Future investigations using soy will be carried out under conditions controlled by the environment, mainly by data mining.

**Keywords:** E-Nose, soybean, water stress, noninvasive phenotyping

**1. Introdução**

A vegetação terrestre contribui com 90% das emissões globais de compostos orgânicos voláteis (COVs) (KINDLER-SCHARR et al., 2009). Tem sido demonstrado que as plantas emitem compostos orgânicos voláteis (COVs) quando afetados por fatores bióticos e abióticos. (JANSEN et al., (2011) e FISHER et al., (2018)). A perspectiva promissora da utilização das medidas dos COVs



na fenotipagem de plantas, como uma medida rápida e não invasiva da dinâmica fenotípica, foi apresentada por Niederbacher e colaboradores em trabalho publicado em 2015. Para a detecção de compostos orgânicos voláteis (COVs) difundidos em meio gasoso em pequenas porções, na ordem de partes por milhão (ppm), se faz necessária a utilização de sensores altamente sensíveis. Desse modo, o controle de odor e análise de aromas pode ser realizado por esse arranjo de sensores de gás chamado de Nariz Eletrônico (“Electronic Nose”), o qual mede somente substâncias químicas voláteis os quais são componentes de odores (mistura de vapores com essas substâncias). O conceito de nariz eletrônico foi proposto inicialmente em 1982 na Universidade de Warwick por Persaud e Dodd (1982). A definição mais aceita foi dada por Gardner e Barlett (1994) que descreve o sistema como “um instrumento composto de um arranjo de sensores eletrônicos, que apresentam especificidade e um sistema padrão de reconhecimento capaz de reconhecer substâncias olfativas de estrutura simples a complexas” (SCHALLER et al, (1998)). A intensidade da emissão pela soja quando submetida sob condições controladas de laboratório ao estresse hídrico foi avaliada. O Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo, assim sendo observa-se a importância do setor para agricultura nacional e desta forma investigar novas técnicas provenientes da fenotipagem de plantas para estudar fatores abióticos é de importância fundamental. Informações advindas das medidas com dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), umidade relativa (%) e temperatura (°C), os quais possuem sensores internos na câmara, foram comparados com os resultados do E-Nose, durante o período de estresse hídrico da soja.

## 2. Materiais e Métodos

Experimentos com a soja foram realizados durante o período de 28 dias, sendo que o “days after sowing (DAS)” foi de 16 até 44. Foram coletadas informações diárias do E-Nose, de CO<sub>2</sub> (interno e externo à câmara), umidade relativa (%) e temperatura (°C). Abaixo a relação de materiais e dos métodos empregados nesse trabalho:

### 2.1. “Electronic Nose (E-Nose)” Alpha FOX 2000

O “Electronic Nose” Alpha Fox 2000 consiste basicamente dos seguintes componentes: - Unidade eletrônica (câmara com seis sensores semicondutores de óxido metálico (M.O.S)) que medem resistência elétrica ( $\Omega$ ); - Porta de injeção de amostra gasosa que se encontra na parte superior da Câmara do sistema; - Pacote avançado de software ( $\alpha$ Soft 12.4) para aquisição e tratamento dos dados sensoriais; - Manômetro para controle do fluxo de gás do equipamento; - Fonte de energia.

#### 2.1.1. Método de cálculo usado com os valores obtidos do E-Nose

A grandeza elétrica medida pelo E-Nose é valor da variação da resistência elétrica ( $\Omega$ ) no tempo, para cada sensor CMOS. Desta forma pode-se acompanhar o processo de adsorção e dessorção do gás que se está medindo. Obtêm-se primeiro os valores de resistência elétrica ( $\Omega$ ), posteriormente de posse desses valores calcula-se a sensibilidade ( $\eta\%$ ) utilizando a equação (1):

$$\eta\% = \left( \frac{R_i - R_0}{R_0} \right) * 100 [\%] \quad (1)$$

onde  $R_0$  é o valor inicial da resistência elétrica ( $\Omega$ ), antes da inserção do gás e  $R_i$  é o valor da resistência elétrica ( $\Omega$ ) a qual varia no tempo, após a inserção do gás.

Com a curva de sensibilidade ( $\eta\%$ ) obtida, calcula-se a área da mesma por intermédio do valor da sua integral.

### 2.2. Câmara de teste instrumentada

Neste presente trabalho, utilizou-se uma câmara cilíndrica especialmente projetada para a adequação de uma planta, no caso a soja (*Glycine max*) geneticamente modificada (GMO), em condições controladas. A câmara contém três sensores internos, os quais são: sensor de CO<sub>2</sub> (ppm)

(interno e externo), de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) e umidade relativa (%). A câmara possui as seguintes dimensões: Altura até a tampa com os sensores ( $h$ ) = 57,0 cm; raio interno ( $R_{in}$ ) = 12,5 cm e volume ( $V$ ) = 28.980,00  $\text{cm}^3$  ou 28,98 litros. O experimento com a soja em crescimento foi realizado dentro da câmara, com a localização da mesma em condições ambiente.

### 2.3. Soja (*Glycine Max*)

Para a realização desse experimento utilizou-se duas sementes de soja (*Glycine max*) geneticamente modificada, A soja é uma planta herbácea incluída na classe Magnoliopsida (Dicotiledônea), ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, gênero *Glycine* L. É uma planta que possui grande variabilidade genética tanto no ciclo vegetativo ( $V_n$ ) como no reprodutivo ( $R_n$ ), sendo influenciada pelo meio ambiente (AGROLINK, 2016). As medidas foram realizadas acompanhando as fases vegetativas, por intermédio da observação dos estágios de evolução da planta, os quais são: VE = Emergência; VC=Cotiledonar; V1=Primeiro nó; V2=Segundo nó; V3 = Terceiro nó; V4=Quarto nó até V5=Quinto nó.

### 2.4. Tipo de solo

O solo utilizado para esse experimento foi um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (LVAd) - granulometria: ARGILA: 369 g/kg; SILTE: 54 g/kg; AREIA: 577 g/kg - umidade na capacidade de campo (considerada na tensão de água de 10 KPa): 0,295  $\text{cm}^3/\text{cm}^3$  - umidade no ponto de murcha permanente (considerado na tensão de água de -1500 kPa): 0,134  $\text{cm}^3/\text{cm}^3$ . “O solo foi retirado da Embrapa Laboratório Nacional de Agricultura de Precisão (LANAPRE), com o local tendo as seguintes coordenadas geográficas 21°57'14” S e 47°51'08” W, 860 (m).

### 2.5. Procedimento experimental

#### 2.5.1. Procedimento padrão de extração do gás da câmara de teste instrumentada

Utilizou-se uma seringa Hamilton de 2500  $\mu\text{l}$ , inseriu-se a agulha da mesma na porta de injeção da câmara instrumentada, contendo a soja e retirou-se o volume 500  $\mu\text{l}$  de amostra de gás para análises no “E-nose” entre 11:00 e 12:00.

### 3. Resultados e Discussão

Foram obtidos graficamente os dados extraídos diariamente durante 28 dias (DAS 16 a 44) para obter as relações entre as medidas realizadas com “E-Nose” e os sensores de medidas de  $\text{CO}_2$ , de umidade relativa (%) e temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), que estão instalados internamente na câmara. As figuras 1 (A), (B) e (C) apresentam essas relações da área da curva de sensibilidade do “E-Nose” versus  $\text{CO}_2$  (ppm) em 1(A), em 1(B) os valores da área da curva de sensibilidade do “E-Nose” versus umidade relativa (RH(%)) e em 1(C) os valores da área da curva de sensibilidade do “E-Nose” versus a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ). A figura 1(D) e 1(E) apresenta os valores de valores de umidade relativa (RH(%)),  $\text{CO}_2$  (ppm) e temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) no interior da câmara, as quais forma obtidas no tempo, tendo o seu início no DAS 16 até 44 (28 dias de medidas). Esse é o período em que o vaso contendo a soja, não foi mais abastecido com água destilada. O solo foi umedecido regularmente até o DAS 15.

As regressões lineares apresentadas nos gráficos são consideradas, para fins de análise dos dados na figura 1(A), (B) e (C), linhas de tendências. Mostrando certo grau de influência das medidas obtidas com  $\text{CO}_2$  (1(A)), e temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) (1(C)) com relação aos dados de E-Nose. Em relação a RH (%) observa-se que não houve variação significativa com a RH (%) (1(B)). Uma das possíveis explicações é o fato de que ocorrendo o estresse hídrico moderado, tem-se que a mesma afeta fotossíntese foliar aumentando a eficiência na utilização de água no processo fotossintético, pois nessa fase é que ocorre o fechamento estomático (AGURLA et al., 2018). A diminuição da concentração de  $\text{CO}_2$  nos espaços intercelulares está, normalmente, associada à ocorrência fotossíntese. A figura 1(C) mostra que há uma linha de tendência para um leve aumento da temperatura dos gases medidos com E-Nose, e esse comportamento demonstra que a transpiração da planta passa a ser limitada.

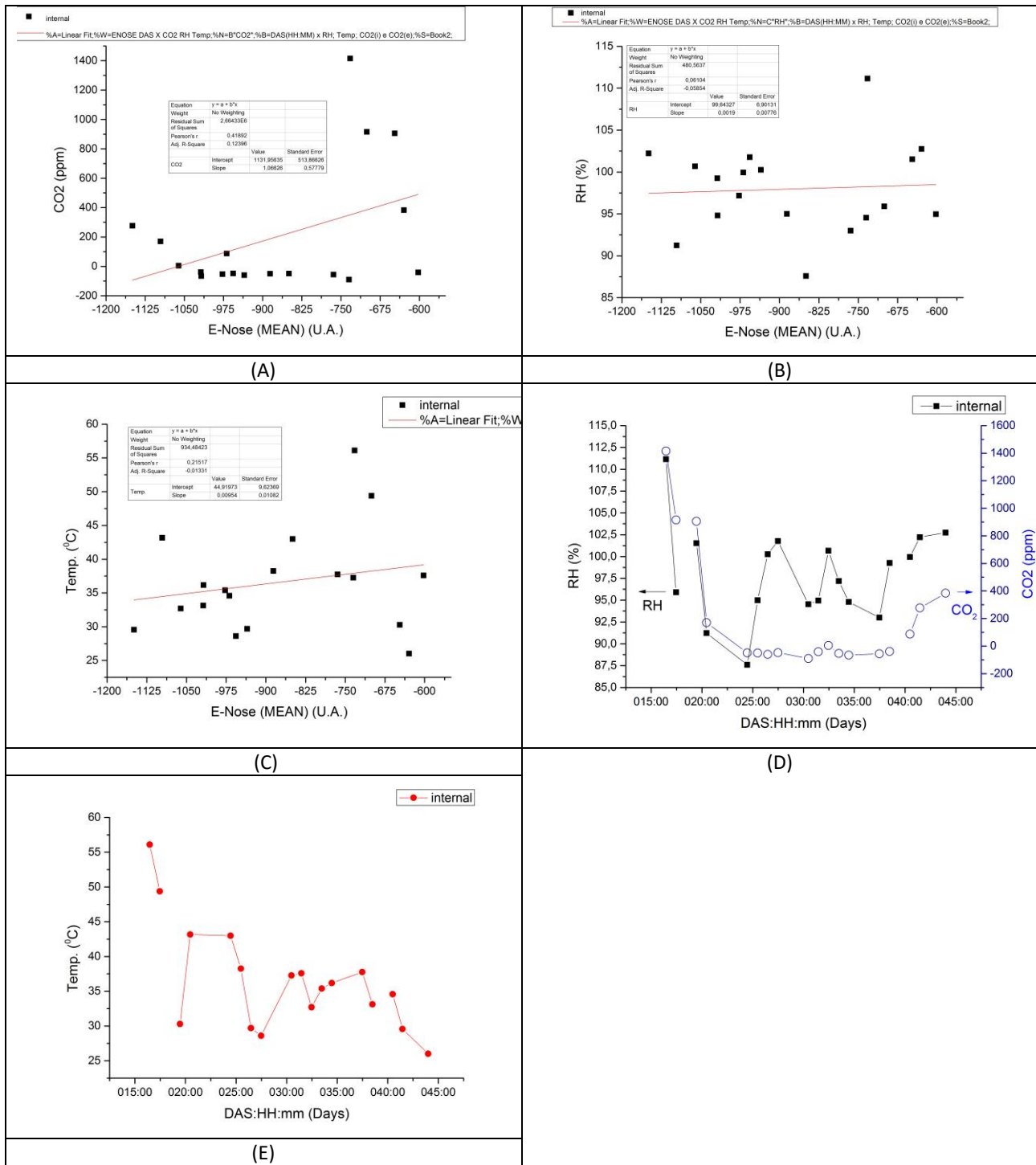


Figura 1. Gráficos mostrando as relações entre as medidas com E-Nose (área da curva de sensibilidade) versus CO<sub>2</sub> (ppm) em 1(A), versus umidade relativa (RH(%)) em 1(B) e versus a temperatura (°C). Os valores de umidade relativa (RH(%)), CO<sub>2</sub> (ppm) e temperatura (°C), obtidas no tempo, entre o DAS 16 a 44 (28 dias de medidas), podem ser vistos na figura 1(D) e 1(E) respectivamente

#### 4. Conclusões

Resultados preliminares mostram a sensibilidade do conjunto de sensores para o volume a ser medido, bem como a potencialidade no uso da técnica com a câmera instrumentada para este fim. Observa-se que a umidade relativa (%), CO<sub>2</sub> (ppm) e Temperatura (°C) no interior da câmara são parâmetros importante nas medidas realizadas com o E-Nose e a consequente relação com o processo fotossintético da planta. Futuros trabalhos estão sendo realizados objetivando abaixar a

umidade interna da câmara, bem como o controle do CO<sub>2</sub> nas medidas com o E-Nose e a utilização de ferramentas de mineração de dados e inteligência artificial.

### **Agradecimentos**

Agradecimento ao corpo técnico e a infraestrutura do laboratório de sensores, do Laboratório Nacional de Nanotecnologia para Agronegócio (LNNA) da Embrapa Instrumentação. Ao Gabriel Belasalma aluno CNPq / PIBIC.

### **Referências**

- AGROLINK. Características da soja (Glycine max). 2016. Disponível em: [http://www.agrolink.com.br/culturas/soja/informacoes/caracteristicas\\_361509.html](http://www.agrolink.com.br/culturas/soja/informacoes/caracteristicas_361509.html). Acesso em: 11 dez. 2017
- AGURLA, S.; GAHIR, S.; MUNEMASA, S.; MURATA, Y.; RAGHAVENDRA, A.S.. Mechanism of Stomatal Closure in Plants Exposed to Drought and Cold Stress, In: Iwaya-Inoue M., Sakurai M., Uemura M. (eds) Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation. Advances in Experimental Medicine and Biology, Springer, Singapore, vol. 1081, p. 215-232, 2018.
- FISHER, M. C.; HAWKINS, N. J.; SANGLARD, D.; GURR, S. J.. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security, Science, v. 360, n. 6390, p. 739-742, 2018
- GARDNER, J.W.; BARTLETT, P. N.. A brief history of electronic noses, Sensors and Actuators B: Chemical, v. 18, Issu. 1-3, p. 210-211, March 1994,
- JANSEN, R.M.C.; WILDT, J., KAPPERS, I.F.; BOUWMEESTER, H.J.; HOFSTEE, J.W.; van HENTEN, E.J.. Detection of Diseased Plants by Analysis of Volatile Organic Compound Emission, Annual review of phytopathology, v. 49, n. 1, p. 157-174, 2011.
- KIENDLER-SCHARR, A.; WILDT, J.; DAL MASO, M.; HOHAUS, T.; KLEIST, E.; MENTEL, T. F.; TILLMANN, R.; UERLINGS, R.; SCHURR, U.; WAHNER, A.. New particle formation in forests inhibited by isoprene emissions, Nature, v. 461, n. 17, p. 381 – 384, 2009.
- NIEDERBACHER, B.; WINKLER, J.B.; SCHNITZLER, J.P.. Volatile organic compounds as non-invasive markers for plant phenotyping, Journal of Experimental Botany, v. 66, n.18, p. 5403–5416, 2015.
- PERSAUD, K.C.; DODD, G.. Analysis of Discrimination Mechanisms in the Mammalian Olfactory System Using a Model Nose. Nature, v. 299, p. 352-355, 1982.
- SCHALLER, E.; BOSSET, J. O.; ESCHER, F.. ‘Electronic Noses’ and Their Application to Food, LWT - Food Science and Technology. vol. 31, n. 4, p. 305-316, 1998.



**BIOFERTILIZANTES A PARTIR DO USO DE FONTES DE NUTRIENTES DE BAIXA REATIVIDADE E MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES**R. Klaić<sup>1,2,\*</sup>, C. P. Fávoro<sup>1,2</sup>, L. A. Lodi<sup>1,2</sup>, C. Ribeiro<sup>1</sup>, C. S. Farinas<sup>1,2</sup><sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP, Brazil*<sup>2</sup> *Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, km 235, 13565-905, São Carlos, SP, Brazil*\* *Autor correspondente, e-mail: [rodrigoklaic@yahoo.com.br](mailto:rodrigoklaic@yahoo.com.br)*

**Resumo:** O aumento na produtividade de alimentos está diretamente ligado ao aumento no consumo de fertilizantes na agricultura. Entretanto, os métodos clássicos de produção de fertilizantes podem causar impactos ambientais e a saúde do ser humano. Portanto, este estudo tem por objetivo apresentar um método alternativo para a produção de biofertilizantes, baseado no uso de microrganismos promotores de solubilização de fontes de nutrientes de baixa reatividade. Nesse contexto podem ser utilizados minerais fosfatados, minerais de potássio, assim como óxidos minerais entre outros minerais de baixa reatividade/solubilidade. Os resultados mostram o fungo filamentososo *Aspergillus niger* C como um bom agente promotor de solubilidade de minerais fosfatados e de potássio. Compósitos fertilizantes foram desenvolvidos a partir de um processo de gelatinização de amido com simultânea dispersão de um mineral fosfatado e encapsulamento desse microrganismo. Este compósito aumentou a solubilidade do fosfato presente no mineral quando bioativado em solo. Estes resultados suportam o desenvolvimento de uma nova classe de biofertilizantes inteligentes, possibilitando novas aplicações e estudos para avaliar formulações com minerais pouco solúveis como fonte de nutrientes para as plantas.

**Palavras-chave:** Solubilização biológica, ácidos orgânicos, *Aspergillus niger*, fertirrigação, compósitos fertilizantes.

**BIOFERTILIZERS FROM THE USE OF NUTRIENTS SOURCES OF LOW REACTIVITY AND MICRORGANISMS SOLUBILIZING**

**Abstract:** The increase in food productivity is directly linked to the increase in fertilizer consumption in agriculture. However, classical fertilizer production methods can have environmental impacts and human health. Therefore, this study aims to present an alternative method for the production of biofertilizers, based on use of microorganisms that promote solubilization of low reactive nutrient sources. In this strategy can be used phosphate minerals, potassium minerals, as well as mineral oxides among other low reactivity/solubility minerals. The results show that the filamentous fungus *Aspergillus niger* C as a good agent to promote increased solubility of phosphate and potassium minerals. Composites fertilizer were developed based in starch gelatinization process with simultaneous dispersion of ground phosphate mineral and encapsulation of this microorganism, these composites increased the solubility of phosphate mineral dispersed were bioactivated in soil. These results support the development of a new class of smart biofertilizer, which could open up new applications for formulations and studies containing poorly soluble mineral as source of nutrients to plants.

**Keywords:** Biological solubilization, Organic acids, *Aspergillus niger*, Fertigation, Composites fertilizers.

**1. Introdução**

O aumento da população mundial gera uma maior demanda por alimentos, e conseqüentemente a busca pelo desenvolvimento de tecnologias para aumento da produtividade.

Estudos mostram que a produtividade agrícola no Brasil entre os anos de 1970 e 2001 aumentou 3,5 vezes enquanto a área cultivada aumentou apenas 1,5 vezes, em paralelo a produção de fertilizantes aumentou 4,4 vezes (FAO, 2003). Portanto, observa-se uma relação direta do aumento de produtividade com o aumento do uso de fertilizantes na agricultura. Os métodos clássicos de produção de fertilizantes são danosos ao meio ambiente causando impactos prejudiciais a atmosfera a partir da geração de resíduos sólidos e efluentes gasosos (CONLEY et al., 2009; NEMERY; GARNIER; 2016). Neste trabalho, mostramos um método alternativo baseado no uso de microrganismos promotores de solubilização para a produção de fertilizantes a partir de fontes de nutrientes de baixa reatividade como minerais fosfatados (para produção de biofertilizantes fonte de P), minerais de potássio (para produção de biofertilizantes fonte de K) e óxidos minerais que podem ser utilizados como fonte de micronutrientes.

Nesse processo o microrganismo desempenha papel fundamental na solubilização do mineral e na liberação do composto na forma química assimilável pelas plantas. O principal mecanismo de solubilização é a acidulação natural produzida por microrganismos pela produção de ácidos orgânicos. Para os minerais fosfatados, geralmente pertencentes ao grupo das apatitas ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}, \text{F}, \text{Cl})$ ), os ácidos orgânicos podem quelatar o cálcio presente na estrutura química do mineral e liberar o grupo fosfato para o meio, promovendo assim a solubilização (MENDES et al., 2014; KLAIC et al., 2017a). Um processo similar acontece para os minerais fonte de potássio (MEENA, MAURYA e VERMA, 2014) e para os óxidos minerais (KLAIC et al., 2017b). Portanto, partindo do princípio de produção de ácidos orgânicos pelos microrganismos pode-se conduzir um processo de cultivo submerso (CS) para promover a solubilização de um mineral alvo, adicionado junto ao meio de cultivo, como por exemplo a rocha fosfática (KLAIC et al., 2017a; 2018a). O produto resultante é um meio líquido rico no macronutriente P, que pode ser utilizado para fertirrigação. O cultivo em estado sólido (CES) também pode ser utilizado para promover a solubilização destes minerais (KLAIC et al., 2018a). Estes processos também têm por vantagem a utilização de resíduos agroindustriais como fonte de carbono/energia para o crescimento dos microrganismos e a produção de ácidos orgânicos (FARINAS, 2015).

Uma segunda estratégia que vem sendo desenvolvida em nosso grupo de pesquisa é o desenvolvimento de compósitos fertilizantes bioativados por microrganismos (KLAIC et al., 2018b; GUIMARÃES et al., 2018). Entretanto, o desafio é desenvolver um material que favoreça a interação de partículas de minerais com simultâneo encapsulamento de microrganismos solubilizadores em um único grânulo, a fim de promover maior viabilidade às células microbianas. Deste modo, este trabalho tem por objetivos: (1) selecionar um microrganismo eficiente para promover a solubilização tanto de minerais de fosfato como de potássio; (2) mostrar uma potencial forma de produção e aplicação desses microrganismos na agricultura por processos fermentativos e desenvolvimento de novos materiais (compósitos fertilizantes); e (3) contextualizar a atuação do grupo de pesquisa na área da produção de biofertilizantes.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Materiais e microrganismos**

A rocha fosfática (30%  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) utilizada é proveniente da região de *Sechura* (Peru) e a rocha potássica (8,35%  $\text{K}_2\text{O}$ ) é natural da região de Poços de Caldas (Minas Gerais, Brasil). Os isolados utilizados neste trabalho foram *Aspergillus niger* C (BRMCTAA 82), *Aspergillus niger* 3T5B8, *Aspergillus niger* F12 e *Aspergillus* 763, (pertencentes a coleção Embrapa Agroindústria de Alimentos - Rio de Janeiro, RJ) e *Aspergillus niger* ATCC 9142 (coleção de culturas tropicais da Fundação André Tosello), *Trichoderma harzianum* LQC 99 e *Trichoderma asperellum* LQC96 (pertencentes a Embrapa Meio Ambiente - Jaguariúna, SP).

### **2.2. Solubilização biológica por cultivo submerso**

O processo de solubilização biológica da rocha fosfática e de potássio foi conduzida conforme descrito por Klaic et al. (2017a). O meio nutriente utilizado no pré-cultivo da rocha

fosfática foi o Pikovskaya (1948) e no cultivo, adicionou-se 0,5% de rocha Bayóvar ao meio NBRIP descrito por (NAUTIYAL, 1999). Para o pré-cultivo e solubilização da rocha potássica foi utilizado uma adaptação do meio líquido Aleksandrov (ALEKSANDROV; BLAGODYR; ILEV, 1967): 1% glicose; 0,05%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,0005%  $FeCl_3$ ; 0,01%  $CaCO_3$ ; 0,2%  $CaPO_4$  e pH 7,0, e para o cultivo submerso foi adicionado 2% de rocha potássica. O pré-cultivo de ambas as rochas foi realizado com  $10^7$  esporos/ml por 48 h em uma incubadora agitadora orbital, a 30 ° C e 220 rpm. As solubilizações das rochas foram iniciadas transferindo 10% da suspensão pré-cultivo para os meios contendo as rochas.

### 2.3. Compósitos fertilizantes

Compósitos contendo amido, rocha fosfática Bayovar, e esporos de *Aspergillus niger* C foram preparados a partir do processo de gelatinização do amido 5% p/v em uma solução de água destilada com 1% p/v de glicerol, conforme a metodologia descrita por Klačic et al., 2018.

### 2.4. Análises químicas

A quantificação do P solubilizado foi realizada conforme a metodologia de Murphy e Riley (1986), sendo sua concentração determinada por espectrometria UV-Vis em 880 nm. A determinação do K solubilizado foi realizado por espectrometria de absorção atômica de chama (FAAS), utilizando um instrumento Perkin Elmer PinAAcle 900T operado no modo de atomização da chama no comprimento de onda de 766,49 nm, largura de fenda de 0,7 nm e mistura de chama de ar sintético a 10 L min<sup>-1</sup> e acetileno a 2,50 L min<sup>-1</sup>.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Solubilização biológica de nutrientes de baixa reatividade

Os experimentos realizados neste estudo evidenciaram o potencial da cepa de *A. niger* C como um microrganismo promotor de solubilização, tanto para minerais fosfáticos como para os minerais de potássio (Figura 1). Estudos similares também demonstraram o potencial desse microrganismo na promoção do aumento da solubilidade de óxidos minerais (KLAIC et al., 2017b), assim como outros tipos de minerais fosfatados tanto por cultivo submerso (CS) como por cultivo estado sólido (CES) (KLAIC et al. 2017a; KLAIC et al., 2018a).

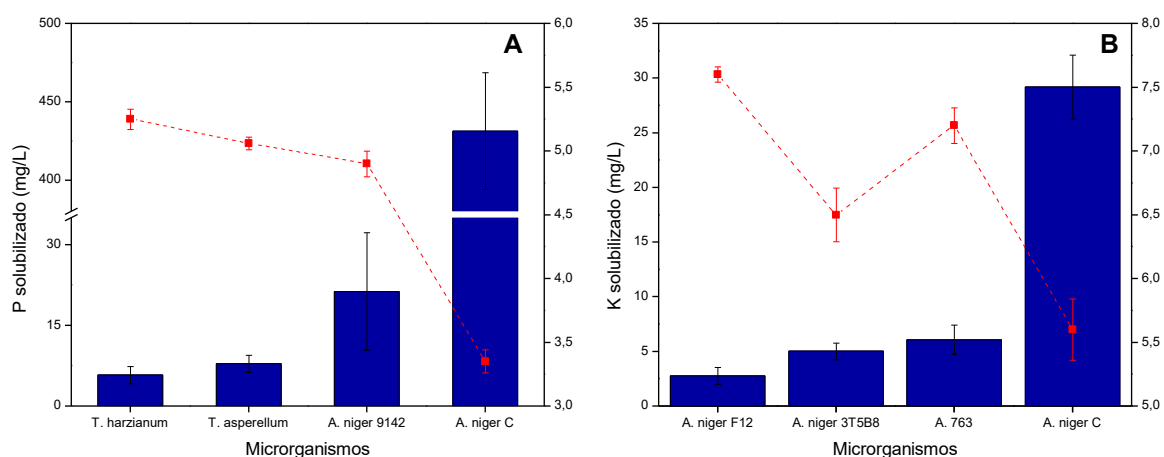


Figura 1. Seleção de microrganismos solubilizadores de rochas naturais. (a) Rocha Bayóvar (0,5%) por 120h; (b) Rocha Poços de Caldas (2%), por 96h. Experimentos realizados em triplicata, calculando média  $\pm$  desvio padrão, em shaker a 30°C e 220 rpm.

Com base nos pHs finais de cultivo observa-se que o *A. niger* C foi capaz de produzir uma maior acidificação no meio quando comparado aos demais fungos avaliados, comprovando que o mecanismo de solubilização desses minerais se dá pela produção de ácidos orgânicos assim como



descrito em outros trabalhos na literatura (NAUTIYAI, 1999; KLAIC et al., 2017a; KLAIC et al., 2018a). Portanto, ressalta-se o potencial desta cepa de *A. niger* como agente solubilizador de diferentes tipos de minerais de baixa reatividade e a versatilidade para ser utilizada tanto em CS como em CES. A direta aplicação destes microrganismos pré-selecionados ao solo, como inoculantes agrícolas, também pode ajudar a aumentar da disponibilidade de nutrientes presentes no próprio solo, mas que se encontram em formas químicas insolúveis.

### 3.2. Compósitos fertilizantes bioativados por microrganismos

Uma vez evidenciado o *Aspergillus niger* C como um microrganismo eficiente para promover o aumento de solubilidade de diferentes minerais e na produção de fertilizantes líquidos para fertirrigação, produziu-se, utilizando o mesmo princípio, fertilizantes granulares - compósitos fertilizantes bioativados por microrganismos (Figura 2). O mineral alvo (neste caso rocha fosfática Bayóvar) foi dispersado em uma matriz de amido, produzida por processo de gelatinização onde os esporos do fungo *Aspergillus niger* C também foram dispersos e encapsulados nesta matriz. O amido gelatinizado oferece características vantajosas para uso como matriz, uma vez que é um polímero natural, de baixo custo, abundante e biodegradável. Além disso, a matriz polissacarídica pode ser metabolizada pelo microrganismo fornecendo energia para o seu crescimento e a produção de ácidos orgânicos. Após o processamento, o material passou por processo de secagem a temperatura de 40 °C por 12 h e foi posteriormente moído, obtendo assim um compósito fertilizante granular, como mostrado na Figura 2A.

A Figura 2B, mostra o esporo de *A. niger* encapsulado na matriz de amido junto de partículas de rocha fosfática dispersas. Quando adicionado ao solo e na presença de umidade esse material é bioativado. O microrganismo se prolifera no grânulo consumindo a matriz de amido e produzindo ácidos orgânicos. Klaic et al. (2018b) mostraram a eficiência desta estratégia ao produzir compósitos com rocha fosfática Bayóvar, e após a bioativação dos microrganismos em meio líquido foi observado uma solubilização de 70% do fósforo total presente no material, enquanto que para o experimento controle (quando apenas a rocha fosfática estava presente) a solubilização do fósforo não ultrapassou 1%.

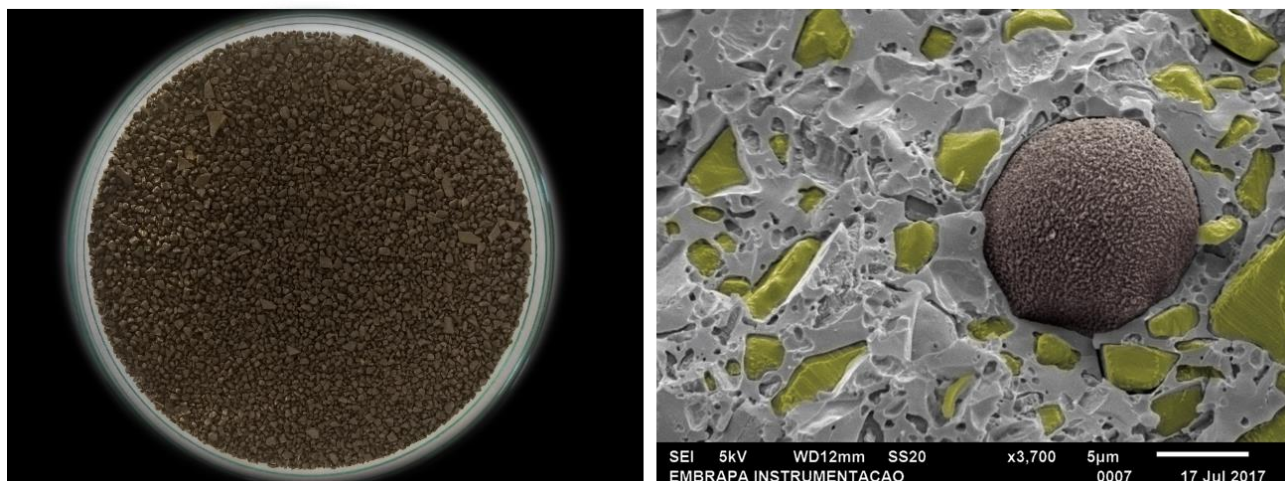


Figura 2. A) Imagem do compósito fertilizante produzido na forma de grânulos. B) Esporo de *Aspergillus niger* encapsulado na matriz de amido e partículas do mineral disperso.

### 4. Conclusões

O fungo filamentoso *Aspergillus niger* C mostrou o melhor potencial entre os microrganismos avaliados para solubilizar diferentes tipos de minerais, enquanto os compósitos produzidos evidenciam que é possível desenvolver rotas alternativas para produção de biofertilizantes líquidos e granulares utilizando microrganismos solubilizadores a partir de fontes de nutrientes de baixa solubilidade. As composições, bem como os microrganismos utilizados,

demonstram a capacidade de utilização desses biofertilizantes. Esse trabalho possui cunho inovador, servindo como base para produção de diferentes formulações, contendo outros tipos de minerais pouco solúveis como fonte de nutrientes para as plantas. Contudo, pesquisas ainda estão sendo realizadas para melhorar o processo de solubilização biológica e diminuir custos de produção.

### Agradecimentos

Agradecemos a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior). Os autores também agradecem a Embrapa Instrumentação, laboratório de Agroenergia e ao laboratório de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LNNA) por darem suporte ao desenvolvimento desta pesquisa.

### Referências

- ALEKSANDROV, V. G.; BLAGODYR, R. N.; ILEV, I. P. Liberation of phosphoric acid from apatite by silicate bacteria. *Mikrobiolo. Hichnyi.Zhurnal (Kiev)*, v. 29, p. 111-114, 1967.
- CONLEY, D. J.; PAERL, H. W.; HOWARTH, R. W.; BOESCH, D. F.; SEITZINGER, S. P.; HAVENS, K. E.; LANCELOT, C.; LIKENS, G. E. Ecology Controlling Eutrophication: Nitrogen and Phosphorus. *Science*, v. 323, 1014-1015, 2009.
- FAO (Food and Agriculture Organization). *World Agriculture: Towards 2015/2030 an FAO Perspective*. BRUINSMA, J (Ed.). Rome, Earthscan Publications Ltd., 2003. 97p.
- FARINAS, C. S. Developments in solid-state fermentation for the production of biomass-degrading enzymes for the bioenergy sector. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, v. 52, 179-188, 2015.
- GUIMARÃES, G. G. F.; KLAIC, R.; GIROTO, A. S.; MAJARON, V. F.; AVANSI, W.; FARINAS, C. S.; RIBEIRO, C. Smart fertilization based on sulfur-phosphate composites: synergy among materials in a structure with multiple fertilization roles. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 6, 12187-12196, 2018.
- KLAIC, R.; PLOTTEGHER, F.; RIBEIRO, C.; ZANGIROLAMI, T. C.; FARINAS, C. S. A novel combined mechanical-biological approach to improve rock phosphate solubilization. *International Journal of Mineral Processing*, v. 161, 50-58, 2017a.
- KLAIC, K.; GUIMARÃES G. F.; FRANCECHINELLI, M., ZANGIROLAMI, C. T.; RIBEIRO, C.; FARINAS, S. Bioativação de óxidos metálicos: uma estratégia para aumentar a solubilidade de óxidos como fonte de micronutrientes. In: 5º Workshop Brasileiro de Fertilizantes. 2017b.
- KLAIC, R.; PLOTTEGHER, P.; RIBEIRO, C.; ZANGIROLAMI, T. C.; FARINAS, C. S. A Fed-Batch Strategy Integrated with Mechanical Activation Improves the Solubilization of Phosphate Rock by *Aspergillus niger*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 6 (9), 11326-11334, 2018a.
- KLAIC, R.; GIROTO, A. S.; GUIMARÃES, G. G. F.; PLOTTEGHER, F.; RIBEIRO, C.; ZANGIROLAMI, T. C.; FARINAS, C. S. Nanocomposite of starch-phosphate rock bioactivated for environmentally-friendly fertilization. *Minerals Engineering*, v. 128, 230-237, 2018b.
- MEENA, V. S.; MAURYA, B. R.; VERMA, J. P. Does a rhizospheric microorganism enhance k<sup>+</sup> availability in agricultural soils? *Microbiological Research*, v. 169, p. 337-347, 2014.
- MEENA, V. S. BAHADUR, I.; MAURYA, B. R.; KUMAR, A.; MEENA, R. K.; MEENA, S. K.; VERMA, J. P. Potassium-Solubilizing Microorganism in Evergreen Agriculture: An Overview, Elsevier Academic Press, 2016. 331 p.
- MURPHY, J.; RILEY, J. P. Citation-classic - a modified single solution method for the determination of phosphate in natural-waters. *Current Contents/Agriculture Biology & Environmental Sciences*, v. 12, 16-16, 1986.
- NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *Fems Microbiology Letters*, v. 170, p. 265-270. 1999.
- NEMERY, J.; GARNIER, J. Biogeochemistry The fate of phosphorus. *Nature Geoscience*, v. 9, 343-344, 2016.
- PIKOVSKAYA, R. I. Mobilization of phosphorous in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*, v. 17, p. 362-370. 1948.
- MENDES, G. D.; DE FREITAS, A. L. M.; PEREIRA, O. L.; DA SILVA, I. R.; VASSILEV, N. B.; COSTA, M. D., Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. *Annals of Microbiology*, v. 64, 239-249, 2014.

**CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE MAÇÃ PARA PRODUÇÃO DE FILMES**A. Manrich<sup>1,\*</sup>, V M. Silva<sup>3</sup>, L. H. C. Mattoso<sup>2</sup>, M. A. Martins<sup>2</sup><sup>1</sup> FAPED / Embrapa Instrumentação, Rua XV de novembro, 1452, CEP 13561-2016, São Carlos, SP<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, rua XV de novembro, 1452, CEP 13561-2016, São Carlos, SP<sup>3</sup> Departamento de Engenharia Química da UFSCar, Rod. Washington Luiz, km 235, SP 310, CEP 13565-905, São Carlos, SP

\* Autora correspondente, e-mail: anny.manrich@gmail.com

**Resumo:** A substituição de derivados de petróleo por materiais origem renovável é buscada com empenho por cientistas de diversas áreas, em especial da área de materiais de embalagens, visto o volume desses materiais que é descartado anualmente no meio aquático e no solo. Em especial, a atenção dirige-se a resíduos oriundos de práticas agrícolas, pois, além de serem baratas e abundantes, sua utilização pode contribuir para a diminuição do descarte desses resíduos. Polpa, casca e semente de maçã derivados da fabricação de suco de maçã são resíduos importantes, contabilizando cerca de 22 milhões de toneladas todos os anos; e por serem comumente descartados, são considerados poluentes. A polpa de maçã contém carboidratos, fibras e fenólicos e pode ser explorada para o desenvolvimento de materiais para filmes e embalagens. Neste trabalho, a caracterização físico-química e estrutural da polpa de maçã gala brasileira foi realizada, objetivando-se sua futura aplicação e valorização comercial. Resultados demonstram que esse resíduo é constituído principalmente por carboidratos, o que é positivo para a produção de filmes comestíveis e biodegradáveis.

**Palavras-chave:** aproveitamento de resíduos agrícolas, processamento de frutas.

**CHARACTERIZATION OF APPLE POMACE FOR FILM PRODUCTION**

**Abstract:** The substitution of petroleum derivatives for renewable source materials is sought with commitment by scientists from various areas, especially the area of packaging materials, considering the volume of these materials that is discarded annually in the aquatic environment and in the soil. In particular, attention is directed to residues from agricultural practices, because, besides being cheap and abundant, they can contribute to the reduction of the disposal of these residues. Apple pulp, peel and seed derived from the manufacture of apple juice are important waste, accounting for about 22 million tons each year; and because they are commonly discarded, they are considered pollutants. Apple pulp contains carbohydrates, fibers and phenolics and can be exploited for the development of film and packaging materials. In this work, the physicochemical and structural characterization of Brazilian gala apple pulp was carried out, aiming its future application and commercial valorization. Results show that this residue consists mainly of carbohydrates, which is positive for the production of edible and biodegradable films.

**Keywords:** agricultural residues utilization, fruit processing.

**1. Introdução**

Muito empenho tem-se dado em tempos recentes à busca por recursos naturais renováveis capazes de substituir os recursos tradicionalmente utilizados de origem fóssil, principalmente na área de materiais e energia (MOSTAFA et al. 2018). Em particular, recursos naturais renováveis obtidos de resíduos das atividades agroindustriais são considerados vantajosos; isso porque, além de serem mais baratos, sua utilização pode contribuir para a redução dos resíduos e beneficiar a cadeia produtiva agrícola (GAIKWAD et al., 2016). Os resíduos agrícolas são fontes de materiais como carboidratos, fibras, proteínas, óleos e fenólicos e não competem em área produtiva de cultivo de alimentos, como é o caso de polímeros biodegradáveis derivados de cereais, por exemplo (MOSTAFA, et al., 2018).

Um resíduo vegetal abundante é a polpa da maçã, resultante da indústria processadora da fruta, que tem seu principal produto o suco concentrado de maçã. Segundo a FAO, a produção mundial de maçã nas últimas cinco décadas aumentou em 424% de 17,0 milhões de toneladas em 1961 para 84,6 milhões de toneladas de maçã em 2017. Em práticas usuais, 25% da maçã é considerada resíduo, sendo que a maior parte é formada pela polpa. (RADENKOVSK et al., 2018). A polpa de maçã é um resíduo produzido em grande escala e é considerado um problema ambiental (SHALINI e GUPTA, 2010). Rica em polifenóis, antioxidantes e fonte de pectina, a polpa de maçã vem sendo explorada para usos diversos, tendo em vista sua valorização econômica. Exemplos são a utilização como combustível para queima em caldeira, fermentação para produção de etanol, biogás e enzimas, além da extração de pectina (SHALINI e GUPTA, 2010). Trabalhos também foram realizados para a utilização da polpa de maçã para o desenvolvimento de materiais e blendas poliméricas, devido à quantidade de carboidratos presentes nesse resíduo (GAIKWAD et al., 2016; GUSTAFSSON, et al., 2019).

Neste trabalho foi realizada a caracterização estrutural da polpa de maçã gala visando sua futura aplicação em embalagens.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Extração da polpa de maçã**

A maçã gala foi adquirida da região de Caxias do Sul, RS, Brasil. Depois de serem lavados, os frutos inteiros foram autoclavados a 121 °C, até que a pressão atingisse 1,0 atm. Neste ponto, desligou-se a autoclave, as maçãs foram retiradas e esperou-se que esfriassem até temperatura ambiente. Com o auxílio de uma faca, separou-se a casca de maçã da polpa, centro e sementes. A polpa foi então congelada e liofilizada.

### **2.2. Análise elementar**

Os teores de C, H e N nas amostras de cutina foram determinados utilizando-se o equipamento de análise elementar (CHN) da Perkin Elmer, modelo 2400 acoplado a software Data Manager 2400, operando a 925 e 640 °C nos fornos de combustão e redução, respectivamente, e sistema de introdução de gás argônio. Esta análise foi baseada no método de análise por combustão, desenvolvido por Dumas, J.B. e publicado em 1831 (DUMAS, 1831). Amostras de aproximadamente 5 mg de cutina foram pesadas e analisadas em sua composição quanto a C, N e H. A análise foi feita em triplicata.

### **2.3. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)**

Os ensaios por Espectroscopia na região do Infravermelho foram realizados em um equipamento Vertex 70 Bruker Optics. As pastilhas foram preparadas com 0,001g de polpa de maçã e 0,100g de KBr. A resolução dos espectros foi de 1 cm<sup>-1</sup> e cada um foi constituído por 32 varreduras.

### **2.4. Difração de raios X (DRX)**

As amostras de cutina extraídas foram analisadas em difratômetro Shimadzu XRD-6000, operando com 30 kV, 30 mA e radiação de CuK $\alpha$  1,5406 Å. Os ensaios serão realizados a temperatura ambiente (25° C) e com ângulos 2 $\theta$  entre 5° e 40° (0.5°. min<sup>-1</sup>).

### **2.5. Termogravimetria (TG)**

Curvas termogravimétricas de TG e DTG foram obtidas em analisador térmico TGA Q500 (TA Instruments Inc., New Castle, EUA) por meio do aquecimento das amostras deste a temperatura ambiente até 600 °C a uma razão de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>. As corridas foram realizadas em atmosfera de ar sintético (80% de N<sub>2</sub> e 20% de O<sub>2</sub>) com fluxo de 60 mL min<sup>-1</sup>.

### 3. Resultados e Discussão

A polpa liofilizada apresentou coloração escura, provavelmente resultante da reação de Maillard ocorrida durante a sua extração por aquecimento em autoclave e da ação enzimática da polifenoloxidase, presente na fruta (LIU et al., 2019). Resultados de análise elementar mostram que a polpa de maçã contém  $38,4 \pm 3,4$  % de carbono;  $2,79 \pm 0,25$  % de hidrogênio e  $0,51 \pm 0,07$  % de nitrogênio. Com base neste último valor, pode-se calcular a quantidade de proteínas presentes no resíduo, que é de  $3,2 \pm 0,1$  %, valores próximos aos indicados por outros autores, demonstrando a composição rica em carboidratos (SHALINI, e GUPTA, 2010).

O espectro de FITR apresentou um aspecto característico de um material composto majoritariamente por polissacarídeos e carboidratos, com picos denotando vibrações de estiramento, dos grupos  $-OH$ ,  $-CH$  em  $3373$ ,  $2926$   $cm^{-1}$ ; picos em  $1737$ ,  $1637$  e  $1058$   $cm^{-1}$  que correspondem ao estiramento do grupo  $-CO$  de éster e  $C=O$  do grupo carboxílico da pectina e grupo  $-CO$  e  $-CH$  estiramento de álcoois secundários e ésteres. A região de  $1200-800$   $cm^{-1}$  contém bandas de vibração  $C-O$  e  $C-C$  esqueléticas de ligações glicosídicas de compostos solúveis (KUMAR e CHAUHAN, 2010; GOWMAN et al., 2019). O espectro de FTIR é mostrado na Figura 1.

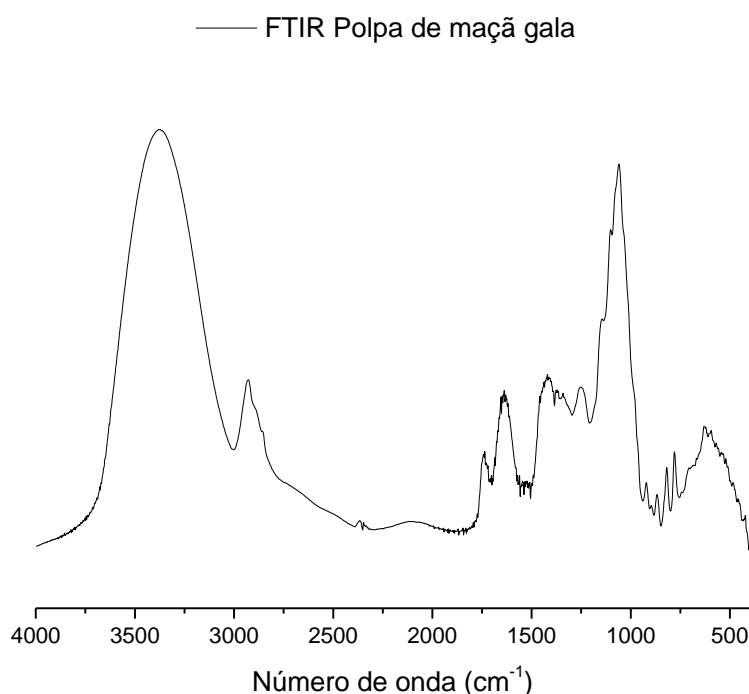


Figura 1. Espectro de FTIR da polpa de maçã gala.

O perfil de degradação térmica da polpa de maçã, Figura 2, apresentou três picos, que correspondem a três etapas de degradação. A primeira, anterior a  $100$   $^{\circ}C$  corresponde à perda de água e voláteis do material. Em seguida, iniciada em  $115$   $^{\circ}C$  com pico máximo em  $200$   $^{\circ}C$ , tem-se a degradação de carboidratos de baixo peso molecular, presentes na polpa. Em seguida, ocorre a degradação de pectina e hemicelulose. A partir de com máximo em  $329$   $^{\circ}C$  há a degradação da celulose. A partir de  $400$   $^{\circ}C$  observa-se o início do último pico, cujo máximo ocorre a  $460$   $^{\circ}C$  e corresponde à degradação da lignina e carbonização de compostos degradados (GOWMAN et al., 2019; GAIKWAD et al., 2016). O perfil de degradação térmica da polpa de maçã é mostrado na Figura 2.

A difratometria de raios X mostrou que, apesar de apresentar um perfil predominantemente amorfo, o resíduo possui três picos de cristalinidade, em 2 de valores  $13^{\circ}$ ,  $16,8^{\circ}$  e  $21,5^{\circ}$ . Os picos em 2 em  $13^{\circ}$  e  $21,5^{\circ}$  caracterizam a presença de pectina (Lutz et al., 2009) e o pico em  $16,8^{\circ}$  pode indicar a presença de celulose do tipo I em sua fase amorfa, ambas presentes na composição da polpa de maçã (GUSTAFSSON et al., 2019). O difratograma é mostrado na Figura 3.



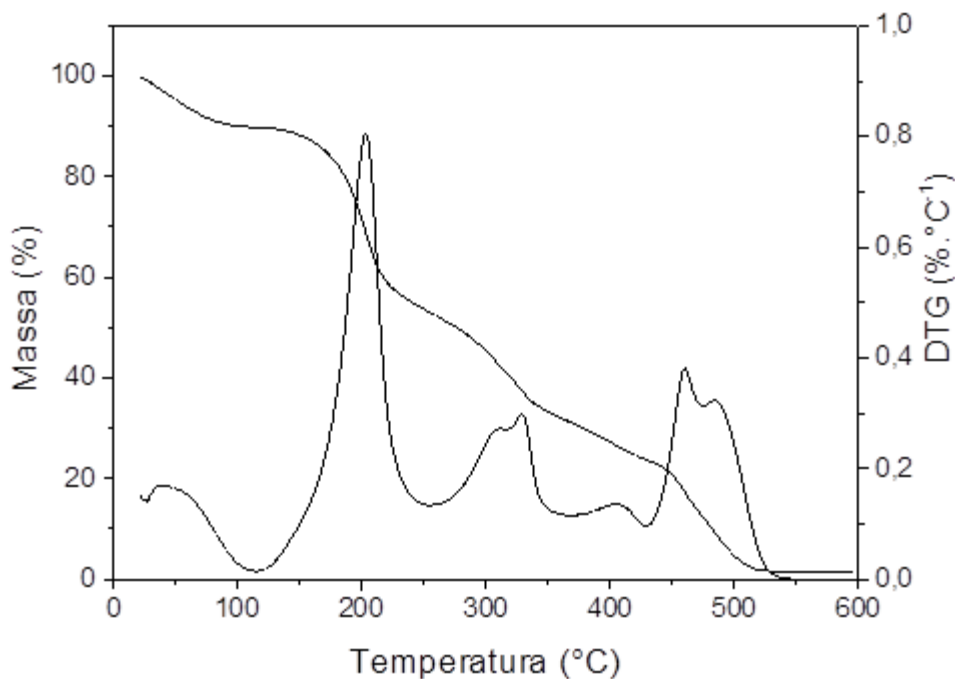


Figura 2. Perfil de degradação térmica (TG e DTG) da polpa de maçã gala.

— DRX polpa de maçã gala

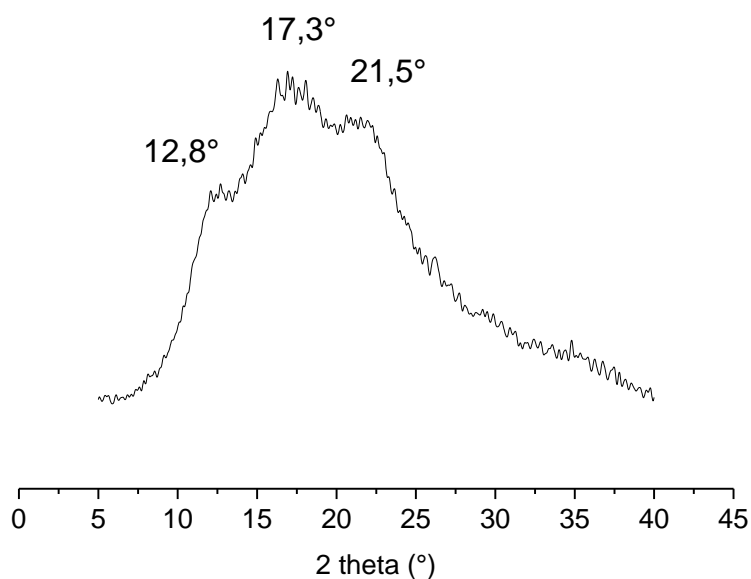


Figura 3. Difratograma da polpa de maçã gala.

#### 4. Conclusões

A caracterização química e estrutural da polpa de maçã gala demonstrou que esse resíduo é predominantemente constituído por carboidratos, o que é positivo para ser utilizado como matéria prima alternativa e de baixo custo para a produção de materiais de embalagens e filmes para alimentos.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa, ao MCTI/SisNANO (402287/2013-4), CNPq ((Processo: 409354/20018-0), e a Rede AgroNano.

**Referências**

- LIU, G.; YING, D.; GUO, B.; CHENG, L. J.; MAY, B.; BIRD, T.; SNGUANSRI, L.; CAO, Y.; AUGUSTIN, M. Extrusion of apple pomace increases antioxidant activity upon in vitro digestion. *Food and Function*, v.10, p. 951-963, 2019.
- SHALINI, R. e GUPTA, D. K. Utilization of pomace from apple processing industries: a review. *J Food Sci Technol*, v. 47, n. 4, p. 365-371, 2010.
- RADENKOVS, V.; KVIESIS, J.; JUHNEVICA-RADENKOVA, K.; VALDOVSKA, A.; PÜSSA, T.; KLAVINS, M.; DRUDZE, I. Valorization of wild apple (*malus spp.*) by-products as a source of essential fatty acids, tocopherols and phytosterols with antimicrobial activity. *Plants*, v.7, n.4, p. 90-108, 2018.
- GAIKWAD, K. K.; LEE, J. Y.; LEE, Y. S. Development of polyvinyl alcohol and apple pomace bio-composite film with antioxidant properties for active food packaging application. *J Food Sci Technol*, v. 53, n. 3, p. 1608-1619, 2016.
- GUSTAFSSON, J.; LANDBERG, M.; BÁTORI, V.; ÅKESSON, D.; TAHERZADEH, M.; ZAMINI, A. Development of bio-based films and 3D objects from apple pomace. *Polymers*, v. 11, p. 289-300, 2019.
- MOSTAFA, N. A.; FARAG, A. A.; ABO-DIEF, H. M.; TAYEB, A. M. Production of biodegradable plastic from agricultural wastes. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 11, p. 546-553, 2018.
- KUMAR, A. e CHAUHAN, G. S. Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor. *Carbohydrate Polymers*, v. 82, n. 2, p. 454-459, 2010.
- GOWMAN, A. C.; PICARD, M. C.; RODRIGUEZ-URIBE, A.; MISRA, M.; KHALIL, H.; THIMMANAGARI, M.; MOHANTY, A. K. Physicochemical analysis of apple and grape pomaces. *Bioresources*, v. 14, n.2, p.3210-3230, 2019.

**APLICAÇÃO DO EQUIPAMENTO – SONDALEITE – PARA O MONITORAMENTO DA  
DEGRADAÇÃO DO LEITE LONGA VIDA (UHT) E O TEOR DE GORDURAS.**W. L. B. Melo<sup>1,\*</sup>, M. C. Mitsuyuki<sup>1</sup><sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, CEP 13569-206, São Carlos, SP*<sup>\*</sup> *Autor correspondente, e-mail: washington.melo@embrapap.br*

**Resumo:** O Sondaleite é um equipamento para análise de leite quando ao estado de conservação e de estabilidade. Neste trabalho, demonstram-se algumas potencialidades deste instrumento, para isto, foram usadas amostras de leites longa vida nas condições de desnatado, semidesnatado e integral. Verificou-se a capacidade do aparelho de identificar o teor de gordura e a degradação das amostras durante três dias mesmo mantidas em geladeira a cerca de 10 °C. Notou-se que o leite desnatado tem velocidade de degradação menor do que os demais.

**Palavras-chave:** leite, gordura, espectroscopia, degradação.

**APPLICATION OF EQUIPMENT - SONDALEITE - FOR MONITORING PASTEURIZED  
MILK DEGRADATION AND THE FATS CONTENT.**

**Abstract:** Sondaleite is equipment for milk analysis when in the state of preservation and stability. In this work, we demonstrate some potentialities of this instrument, for this, we used long-life milk sample in the conditions of skim, semi-skim and integral. The ability of the apparatus to identify the fat content and degradation of the samples for three days even in a refrigerator at about 10 °C was verified. It was noted that the skimmed milk has a lower degradation rate than the others.

**Keywords:** milk, fat, spectroscopy, degradation.

**1. Introdução**

O leite é um alimento complexo, que é composta basicamente por gorduras, proteínas, minerais, vitaminas, açúcares e água. Além disto, pode apresentar micro-organismos oriundos do próprio animal ou das condições do manejo deste, entre outros. Portanto, no leite os micro-organismos estão em constante evolução populacional já que é um meio propício. A função da pasteurização é reduzir a população microbiana, principalmente aquelas que causam danos à saúde do consumidor. No leite longa vida, o processo térmico é diferente, nesse caso ocorre a morte de 99,9% da população bacteriana, enquanto na pasteurização é cerca de 95%. O processo de degradação do leite com tempo é um fator econômico muito preocupante tanto para o produtor, a indústria, quanto para o consumidor.

Técnicas prévias, como o teste do álcool, graus Dornic e outros, aplicadas nos locais de coleta e conservação servem de avaliação inicial da qualidade, contudo, estes testes têm apresentado subjetividades nos resultados, gerando desconfianças entre produtores e a indústria. Na tentativa de procurar uma solução, diversos pesquisadores vem usando técnicas espectroscópicas baseadas na espectrofotometria por transmissão ou por refletância difusa. A espectrofotometria por transmissão é uma técnica muito restrita para a análise de tais substâncias, devido ao alto nível de espalhamento principalmente decorrente das partículas de gorduras. Outros pesquisadores têm procurado associar a esta técnica a Espectrofotometria por Refletância Difusa (ERD), mas comparativamente com a técnica por transmissão óptica se verificou que a ERD fornece melhores resultados (OHTANI, S, et al, 2005; AERNOUTS, B., et al, 2011).

O equipamento Sondaleite, desenvolvido na Embrapa Instrumentação, é baseado na ERD e tem como fonte de iluminação Diodos Emissores de Luzes (LEDs). Os comprimentos de onda das luzes emitidas pelos LEDs são os seguintes valores: 400, 470, 525, 570, 590, 605, 640, 680, 740,



850, 950, 1050 nm. Neste trabalho se deseja mostrar algumas potencialidades do Sondaleite quanto ao monitoramento da degradação do leite com o tempo e a distinção entre os teores de gorduras.

## 2. Materiais e Métodos

O Sondaleite é composto principalmente por uma câmara de medição onde o leite é colocado. Na base desta câmara há uma janela óptica por onde a luz incide na superfície inferior da amostra. Por baixo da janela, tem-se uma cabeça óptica plano-convexa onde se encontra os LEDs e o fotodetector. Os LEDs são acionados por um programa de aquisição de dados e controle, executado por um computador embarcável, “Beaglebone Black”. Os dados adquiridos são enviados para uma “nuvem de armazenamento” via “wifi” e o controle do sistema é feito por um programa instalado no “smartphone”, sistema “Android”, cujos comandos são enviados por “bluetooth”. A Figura 1 mostra uma foto do protótipo desenvolvido na Embrapa Instrumentação.

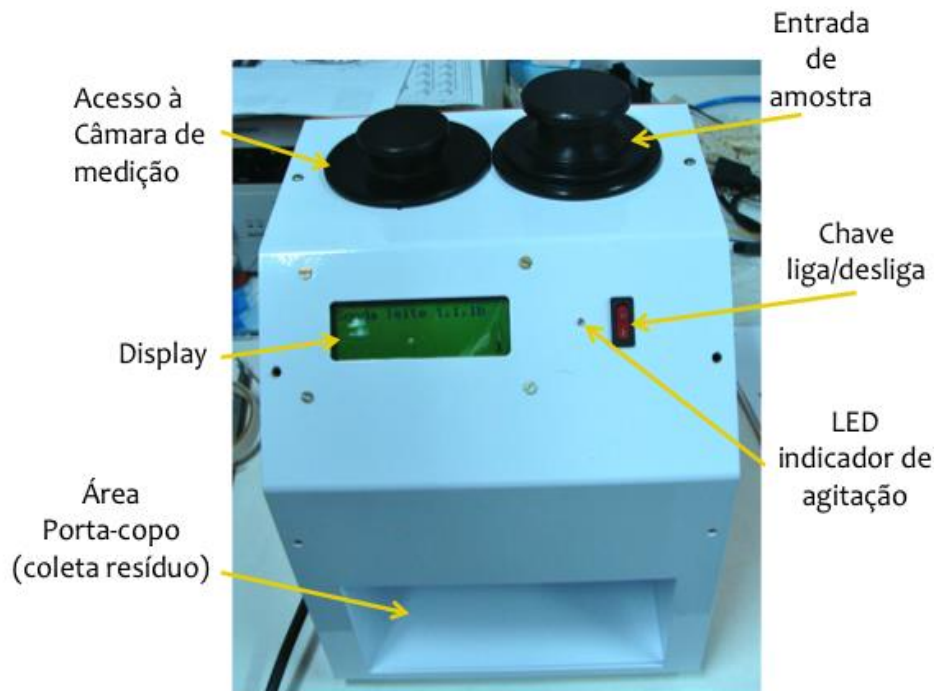


Figura 1. Protótipo Sondaleite da Embrapa Instrumentação.

### 2.1. Descrição do modelo teórico

Para obter os espectros de absorção, usou-se a Função Kubelka-Munk (KOKHANOVSKY, 2007; BARRON, V et al., 1986) dada por:

$$\text{Função KM} = \frac{\text{Absorção}}{\text{Espalhamento}} = \frac{(1 - R)^2}{2R} \quad (1)$$

sendo

$$R = \frac{(S_{\text{nal}}_{\text{Amostra}} - S_{\text{nal}}_{\text{Preto}})}{(S_{\text{nal}}_{\text{Branco}} - S_{\text{nal}}_{\text{Preto}})} \quad (2)$$

onde: R é o fator de refletância;  $S_{\text{nal}}_{\text{Amostra}}$  é o valor em volts devido à luz refletida pela amostra na câmara de medição e captada pelo fotodetector;  $S_{\text{nal}}_{\text{Preto}}$  é a voltagem gerada devido a luz refletida quando a câmara de medição está vazia;  $S_{\text{nal}}_{\text{Branco}}$  é quando a câmara de medição está com um disco de teflon como referência branca.

### 2.2. As amostra de leite e as medições espectroscópicas

As amostras usadas no Sondaleite foram leites longa vida nas condições: desnatado, semidesnatado e integral de mesmo fabricante. As informações contidas nas caixas sobre o teor de



gordura são: 0% - desnatado; 1% - semidesnatado e 3% - integral.

Estas amostras foram usadas a cada 24 horas e mantidas em geladeira (cerca 10 °C) após o uso. Usou-se, por cada vez, cerca de 100 ml de leite para a obtenção do espectro, depois a amostra era descartada. A medida dura cerca de 25 a 30 segundos por amostra.

Para evitar contaminação entre as amostras de diferentes leite, optou-se por iniciar as medições com o leite desnatado, seguido pelo semidesnatado e por fim pelo integral. Foram realizadas medições a cada 24 horas por três dias consecutivos.

Os espectros discretos são obtidos de 400 a 1050 nm, em seguida, aplica-se as equações (1) e (2) e a técnica de interpolação “spline cúbica” para gerar o espectro contínuo. O software R versão 3.6.1 foi utilizado nas análises.

### 3. Resultados e Discussão

A Figura 2 mostra os espectros do fator de refletância para os três tipos de leite conforme os teores de gorduras. Nota-se que o leite desnatado apresenta mais baixa refletância quando comparado àqueles com outros teores. Como o leite integral tem o maior teor, portanto, se espera maior espalhamento de luz e baixa absorção como evidenciado na Figura 3. O gráfico inserido nesta figura evidencia os espectros na região do visível. Observa-se que os teores de gorduras influenciam por todo o espectro.

Na região do infravermelho, as diferenças espectrais são significativamente distintas, especialmente para o leite desnatado. Nesse caso, há baixo espalhamento de luz, porém alta absorção óptica, causando a intensa banda acima de 1100 nm, correspondendo à absorção da água.

A banda entre 650 a 850 nm pode ser usada para relacionar com o teor de gordura, porém a água também absorve entre 740 a 840 nm. Assim, é necessária uma correção devido à presença da água (RUSSELL, A., 2013).

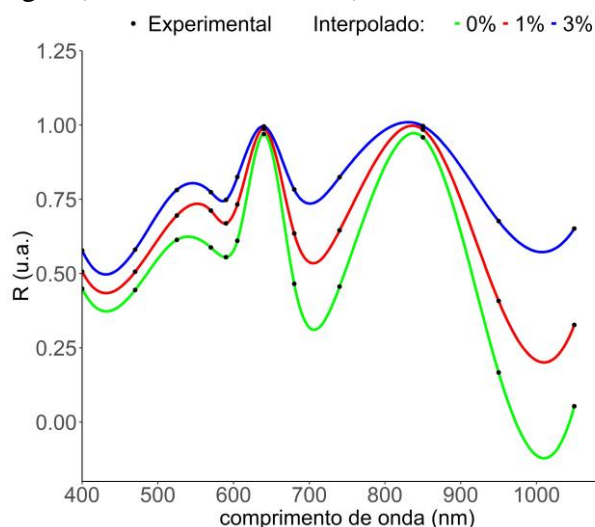


Figura 2. Os pontos (•) são os valores do fator de refletância R. e curva contínua obtida por “spline cúbica”.

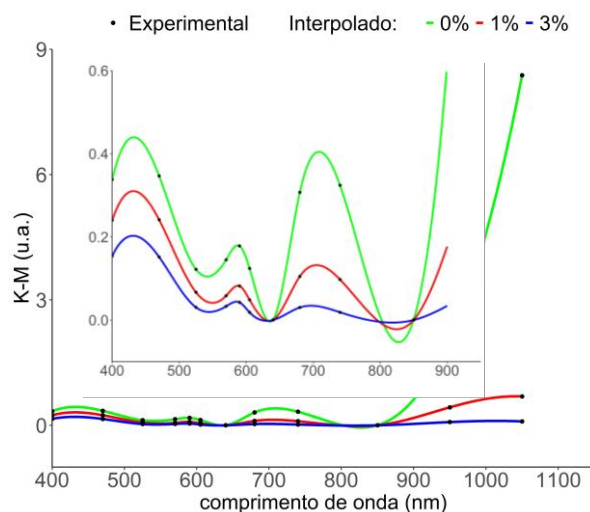


Figura 3. Espectros K-M das amostras com diferentes teores de gordura. (•) Experimental, curva contínua obtida por “spline cúbica”.

A Figura 4 mostra os espectros de degradação do leite desnatado mantido em geladeira por três dias e medido a cada 24 horas. Nota-se que o efeito foi significativo para o infravermelho entre a primeira medida e as seguintes, porém na região do visível não houve mudanças significativas. Observa-se que o leite desnatado se degrada mais lentamente em comparação com os de outros teores. Enquanto na Figura 5, têm-se os espectros do leite semidesnatado em processo de degradação. Verificou-se que os espectros mudaram principalmente na região do azul, enquanto no infravermelho a variação não foi significativa. Sendo a região azul mais sensível às alterações das proteínas, então, acredita-se que estas mudanças espectrais sejam devidas à degradação dessas moléculas.

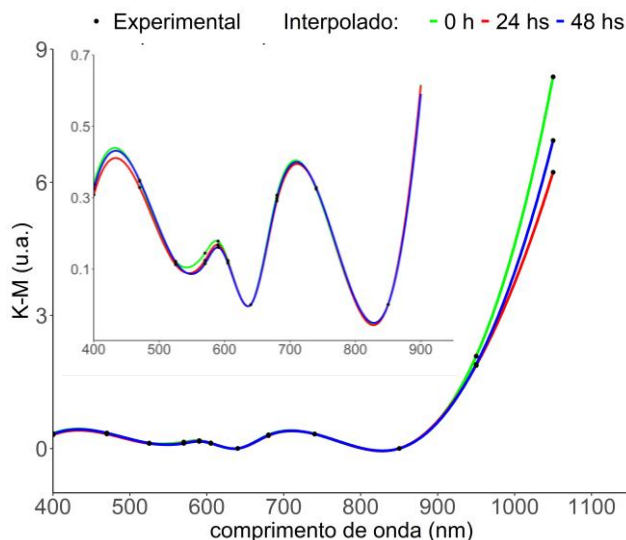


Figura 4. Espectros K-M da degradação do leite desnatado. (•) Experimental, curva contínua obtida por “spline cúbica”.

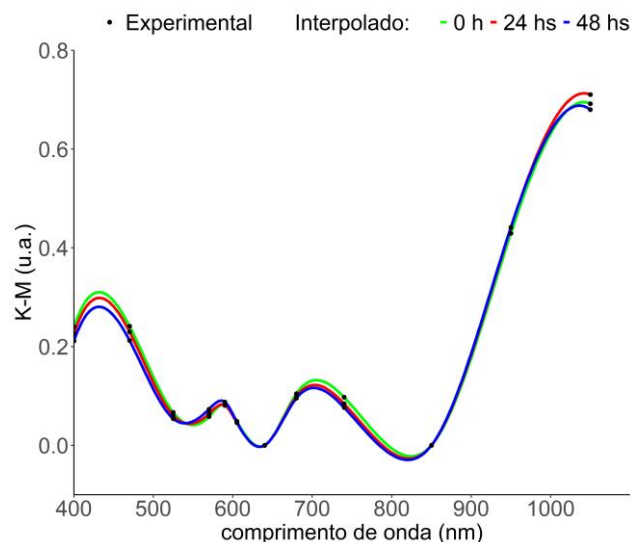


Figura 5. Espectros K-M da degradação do leite semidesnatado. (•) Experimental, curva contínua obtida por “spline cúbica”.

A Figura 6 mostra os espectros da degradação do leite integral durante três dias e conservado em geladeira. Observa-se que os espectros se deslocaram para baixo ao longo do tempo. As regiões do azul e do infravermelho são as mais sensíveis com o efeito de alteração das condições do leite. Acredita-se que devido ao teor de gordura, a velocidade de degradação foi maior do que nos outros casos.

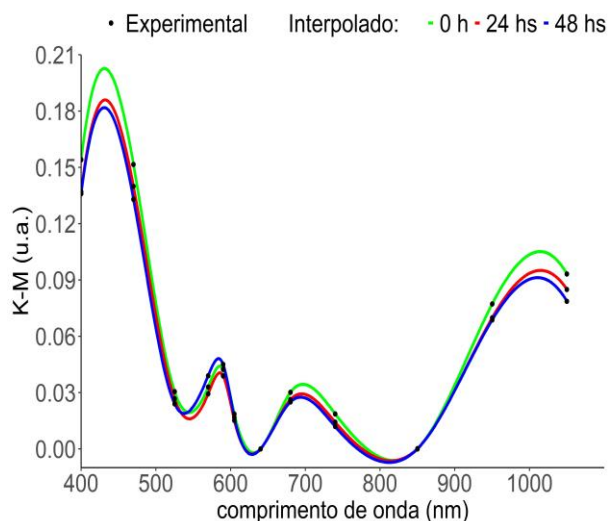


Figura 6. Espectros K-M da degradação do leite integral. (•) Experimental, curva contínua obtida por “spline cúbica”.

#### 4. Conclusões

Nesses experimentos com leites pasteurizados e nas condições de trabalho, notou-se que: os teores de gorduras influenciam por todo o espectro; no infravermelho, as diferenças espectrais são distintas principalmente para o leite desnatado onde o efeito de espalhamento é menor e há alta influência da água; o leite desnatado se degrada mais lentamente em comparação com os de outros teores; para o leite integral, devido ao teor de gordura, a velocidade de degradação foi maior do que nos outros casos.

Assim, o Sondaleite tem verdadeiro potencial para a análise de leite quanto à estabilidade e conservação, além da determinação dos teores de gordura, entre outros.

### **Agradecimentos**

À Embrapa pelo apoio financeiro por meio do no projeto SEG 23.16.05.041.00.00 e à empresa Dairy Equipamentos por sua parceria no desenvolvimento.

### **Referências**

- AERNOUTS, B., POLSHIN, E., LAMMERTYN, J., SAEYS, W. Visible and near-infrared spectroscopic analysis of raw milk for cow health monitoring: Reflectance or transmittance?, *J. Dairy Sci.* 94:5315–5329, 2011.
- ANDREW RUSSELL, Milk spectroscopy. 2013. 130p. Dissertação (mestrado em engenharia), The University of Waikato, Nova Zelândia, 2013. <<http://researchcommons.waikato.ac.nz/>>. Acesso em: 12/08/2018.
- BARRON, V. TORRENT, J. Use of the Kubelka-Munk theory to study the influence of iron on soil colour. *Journal of Soil Science*, v37, 499-510, 1986.
- KOKHANOVSKY, A. A. Physical interpretation and accuracy of the Kubelka–Munk theory. *J. Phys. D: Appl. Phys.* v40, 2210–2216, mar. 2007.
- OHTANI, S, WANG, T., NISHIMURA, K, IRIE, M. Milk fat analysis by fiber-optic spectroscopy. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* V18, No. 4, 580-583, 2005.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>.

**DESENVOLVIMENTO DA INSTRUMENTAÇÃO DE UMA SONDA ESPECTROSCÓPICA  
POR EMISSÃO DISCRETA PARA ANÁLISE DA QUALIDADE DO LEITE -  
SONDALEITE.**W. L. B. Melo<sup>1,\*</sup><sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, CEP 13561-206, São Carlos, SP*<sup>\*</sup> *Autor correspondente, e-mail: washington.melo @embrapa.br*

**Resumo:** O leite é um alimento de grande importância nutricional e econômico, porém sua qualidade depende do manejo dos animais além de outros fatores genéticos. O equipamento Sondaleite foi desenvolvido para analisar as condições de estabilidade quanto aos estados: NORMAL, LINA (Leite Instável Não Ácido) e ÁCIDO. Os métodos para detecção destes estados têm gerado resultados falso-positivos e causam prejuízo ao produtores, pois o leite com esses laudos são rejeitados. Trata-se de um instrumento espectroscópico por refletância difusa cujas fontes de excitações são luzes oriunda de diferentes Diodos Emissores de Luzes (LED), variando discretamente desde o ultravioleta (400 nm) até o infravermelho (1050 nm). Este trabalho apresenta o desenvolvimento instrumental e a estrutura baseada na internet das coisas.

**Palavras-chave:** leite, espectroscopia, qualidade, estabilidade, LED.

***DEVELOPMENT OF THE INSTRUMENTATION OF A SPECTROSCOPY PROBE BY  
DISCRET EMITION FOR MILK QUALITY ANALYSIS - SONDALEITE***

**Abstract:** Milk is a food of great nutritional and economic importance, but its quality depends on the management of animals and other genetic factors. The Sondaleite equipment was developed to analyze the stability conditions for the states: NORMAL, LINA (non-acid unstable milk) and ACID. The methods for detection of these states have generated false positive results and cause harm to producers, because the milk with these reports are rejected. It is a diffuse reflectance spectroscopic instrument whose excitation sources are lights from different Light Emitting Diodes (LEDs), varying slightly from ultraviolet (400 nm) to infrared (1050 nm). This paper presents instrumental development and its IoT based structure.

**Keywords:** milk, spectroscopy, quality, stability, LED.

**1. Introdução**

A cadeia leiteira é de grande importância econômica e social para o país, sendo carente de técnicas rápidas de análise no local de produção que resolva as incertezas e subjetividades causadas pelos testes usados para monitorar a qualidade do leite cru. O SondaLeite é um equipamento desenvolvido na Embrapa Instrumentação e tem como foco de aplicação à qualidade do leite, quanto ao grau de acidez e instabilidade do produto nos locais de produção e de coleta. A questão da qualidade do leite é um fator determinante quanto à conservação da matéria prima e uso na elaboração de derivados. O teste do álcool/alizarol é atualmente usado para detectar a condição de estabilidade e acidez do leite no momento da coleta, mas sofre algumas rejeições por apresentar subjetividade e falhas que possibilitam resultados falsos negativos ou positivos. Outros testes como o Dornic e o de pH também são utilizados, porém, em ambiente de laboratório.

O Leite Instável Não Ácido (LINA) é um problema que acomete rebanhos leiteiros e que se caracteriza por apresentar alterações nas características físico-químicas do leite (ZANELA, M. B. et al., 2006). A principal alteração identificada é a perda da estabilidade da caseína ao teste do álcool, resultando em precipitação positiva, sem haver acidez acima de 18° Dornic. A perda da estabilidade da caseína causa significativos prejuízos econômico-financeiros a toda cadeia produtiva, pois o leite



é rejeitado ou subvalorizado pela indústria, mesmo apresentando níveis de acidez considerados normais pelos padrões legais, sendo deixado na maioria das vezes, na propriedade rural (ZANELA, M. B. Et al., 2009)

Assim, o SondaLeite tem a potencialidade de monitorar as questões de instabilidade, leite instável não ácido (LINA), doenças como mastite e também adulterações. Acredita-se que o SondaLeite vem ao encontro desta carência.

## 2. Materiais e Métodos

O sondaleite é constituído por cinco partes: 1) câmara de medição; 2) sistema óptico com LED; 3) computador embarcado; 4) “smartphone”; 5) Portal sondaleite. As Figuras 1 e 2 mostram as vistas frontal e interna do Sondaleite.

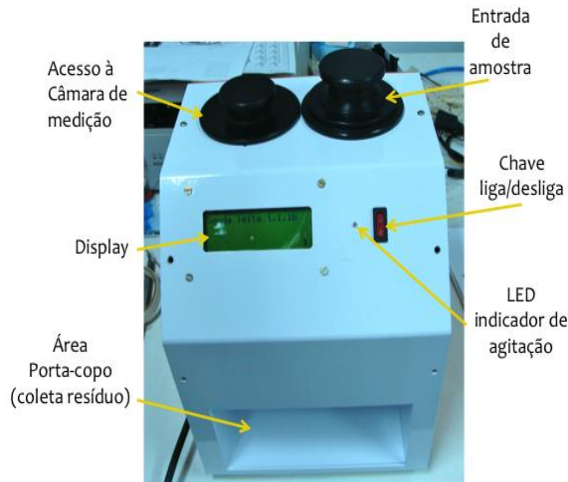


Figura 1. Vista frontal do Sondaleite.

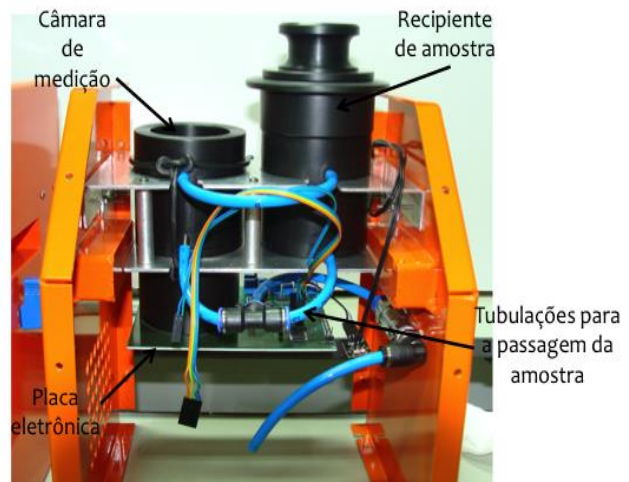


Figura 2. Vista interna do Sondaleite.

### 2.1 A Câmara de Medição e o sistema óptico a LED

Composta por um recipiente com volume de cerca de 50 ml cujo fundo tem uma janela óptica por onde atravessa os feixes de luz que incide sobre a superfície inferior da amostra.

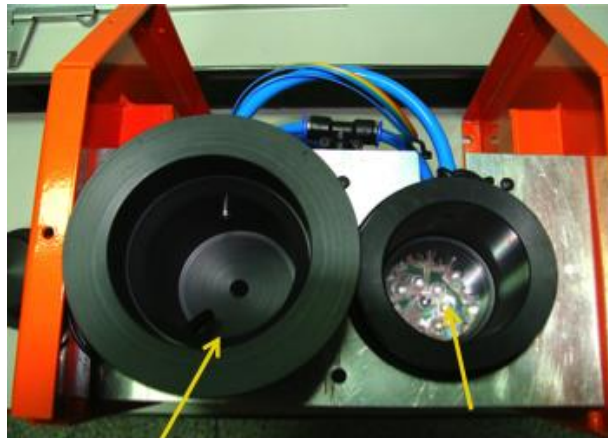
A Figura 3 mostra a vista interna desta câmara juntamente com o recipiente de entrada de amostra. Neste recipiente se coloca a amostra que flui para a câmara de medição sem formar turbulência. Também nele podem ser instalados diversos outros sensores, por exemplo: temperatura; Ph; condutividade elétrica, entre outros. Atualmente, encontra-se instalado um sensor de temperatura. A incorporação desses sensores torna o aparelho multifuncional, possibilitando ampliar o leque de detecção de fatores como resíduos e adulterações, além daqueles já definidos anteriormente. Os diferentes tipos de detecções podem ser correlacionados para melhor caracterizar a amostra.

Cerca de 100 ml de leite é usado para a medição, sendo metade deste volume na câmara de medição. Na tampa desta câmara há um motor (não mostrado na foto) munido por uma pá que gira em rotação controlada para homogeneizar o leite.

Na figura 4, nota-se a distribuição dos LEDs dentro da cabeça plano-convexa. Os comprimentos de onda das luzes emitidas pelo conjunto de LEDs estão distribuídos no intervalo de 400 a 1050 nm com os seguintes valores discretos: 400, 470, 525, 570, 590, 605, 640, 680, 740, 850, 950 e 1050 nm.

Para realizar uma medição, inicialmente, deve-se obter o espectro de referência. Para isto, duas medições são realizadas: uma com a câmara vazia e fechada; a outra usando um dispositivo feito de teflon e inserido dentro desta câmara.

Todos os espectros ficam armazenados na memória do computador até que uma conexão de “wifi” válida seja detectada. Nisso, os dados são enviados para uma “nuvem” que permite que estes sejam baixados de qualquer lugar na rede de internet.



Recipiente de amostra

Câmara de medição



Figura 3. Vista interna da câmara de medição e do recipiente de entrada de amostra.

Figura 4. Detalhe da cabeça óptica e a placa de circuito eletrônico para acionamento dos LEDs.

## 2.2. Computador embarcado e programa para o “smartphone”

Para fazer funcionar o Sondaleite, os programas computacionais estão instalados em dois dispositivos: o computador embarcável “Beaglebone Black (BBB)” e em um “smartphone” com sistema “Android”. O “smartphone” executa um programa que envia comandos por “Bluetooth” ao BBB para que este o execute. Nisso, o BBB executa o programa de aquisição de dados e os envia por “wifi” ao Portal Sondaleite na internet. Optou-se por esta modalidade para evitar a dependência de computador de mesa e que o resultado fosse imediatamente apresentado ao usuário diretamente em suas mãos no aparelho celular. A versatilidade aumenta, pois os dados podem ser vistos em qualquer lugar de onde sejam acessados. A empresa parceira, Dairy Equipamentos, concordou com o processo.

O computador BBB executa a aquisição dos dados em cerca de 25 a 30 segundos, neste tempo, lê os sinais de reflexão de todos os LEDs, armazena-os em memória e os envia para o smartphone e para o Portal Sondaleite. Os arquivos de cada medição contém todas as informações de data, hora, local informado, temperatura, se o leite foi agitado ou não, nome operador do equipamento ou do produtor.

Uma rotina interna ao programa no computador BBB pode calcular os espectros de absorção/espalhamento a partir da aplicação da função Kubelka-Munk (KOKHANOVSKY, 2007; BARRON, V et al., 1986) dada por

$$\text{Função KM} = \frac{\text{Absorção}}{\text{Espalhamento}} = \frac{(1 - R)^2}{2R} \quad (1)$$

sendo

$$R = \frac{(Sinal_{Amostra} - Sinal_{Preto})}{(Sinal_{Branco} - Sinal_{Preto})} \quad (2)$$

onde: **R** é o fator de refletância; **Sinal<sub>Amostra</sub>**, sinal da amostra; **Sinal<sub>Preto</sub>**, sinal da câmara de medição fechada e vazia; **Sinal<sub>Branco</sub>**, sinal do disco de teflon dentro da câmara de medição.

No programa do “smartphone”, o usuário deve informar o nome do produtor de leite ou do operador do equipamento, o local de medição e o código da amostra de leite no formato: < data: DDMMAA > < código individual > < Mn onde n é o número de medições do mesmo leite >.

As Figuras 5 e 6 apresentam as fotos do computador instalado na placa de circuito eletrônico e a tela de comando no “smartphone”.

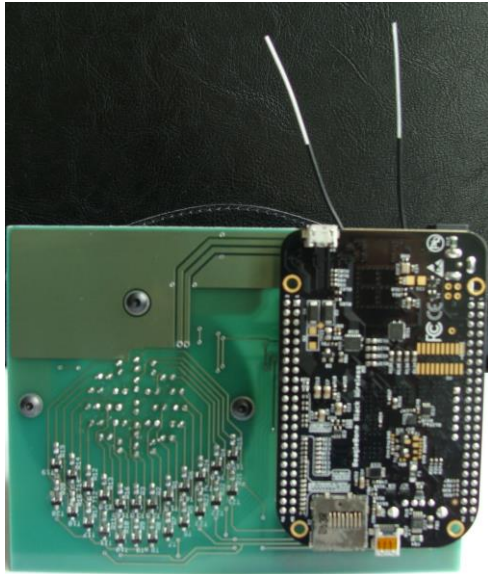


Figura 5. Computador embarcável conectado à placa do circuito eletrônico do Sondaleite.

Figura 6. Tela do “smartphone” com o programa de controle do Sondaleite.

A Figura 7 mostra um fluxograma básico das etapas de operação do equipamento Sondaleite.

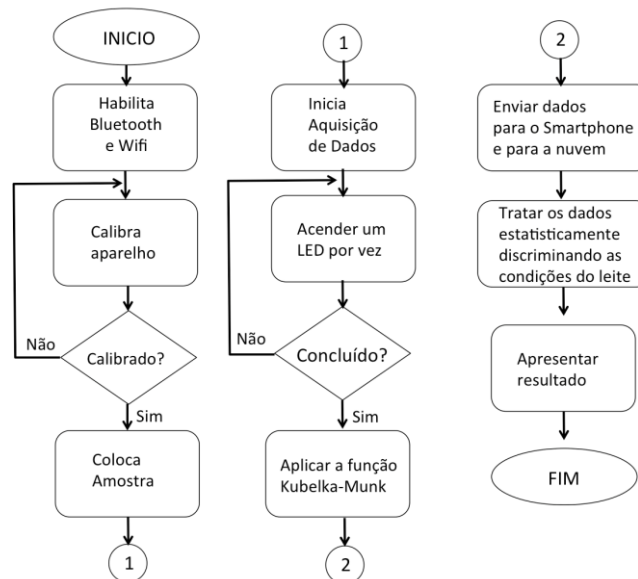


Figura 7. Fluxograma das atividades do Sondaleite.

### 3. Resultados e Discussão

Os espectros obtidos são enviados também ao aparelho “smartphone” para uma visualização prévia da medida. A Figura 7 mostra uma tela o “smartphone” que apresenta os pontos espectrais e a curva contínua gerada por recurso de interpolação. Enquanto, a Figura 8 mostra a tela do Portal Sondaleite. Clicando no botão verde, aparecerá uma tela com um gráfico dos pontos adquiridos, mas se clicar sobre o botão laranja, então, obtém-se um arquivo com os pontos experimentais.

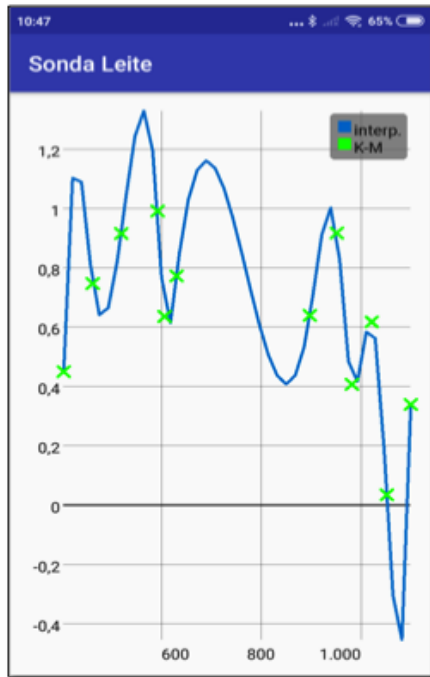


Figura 7. Tela do “smartphone” mostrando os pontos obtidos durante o experimento e a curva contínua de interpolação.

### Sondaleite

Sistema de monitoramento da qualidade do leite.

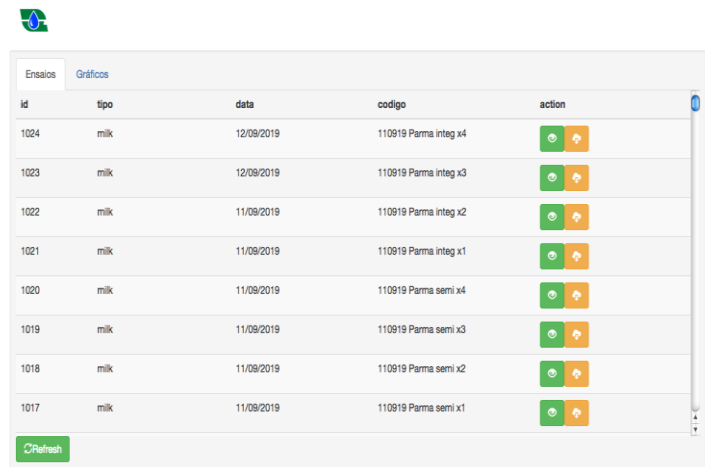


Figura 8. Tela do Portal Sondaleite mostrando algumas medições de leite.

## 4. Conclusões

Testes preliminares realizados no SondaLeite estão apresentados neste Simpósio no texto APLICAÇÃO DO EQUIPAMENTO – SONDALEITE – PARA O MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO DO LEITE LONGA VIDA (UHT) E O TEOR DE GORDURAS. Pode-se verificar que equipamento tem potencialidades para atingir o que foi proposto. É um equipamento relativamente simples e de custo acessível para a cadeia leiteira. Pode ser ainda incrementado para se tornar um aparelho de múltiplas funções e com isto ampliar o escopo de detecção da condição do leite cru.

## Agradecimentos

À Embrapa pelo apoio financeiro por meio do no projeto SEG 23.16.05.041.00.00 e a empresa Dairy Equipamentos por sua parceria no desenvolvimento.

## Referências

- BARRON, V. TORRENT, J. Use of the Kubelka-Munk theory to study the influence of iron on soil colour. *Journal of Soil Science*, v37, 499-510, 1986.
- KOKHANOVSKY, A. A. Physical interpretation and accuracy of the Kubelka–Munk theory. *J. Phys. D: Appl. Phys.* v40, 2210–2216, mar. 2007.
- ZANELA, M.B.; MARQUES, L.T.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JR., W. ; BARROS, L.E.; RODRIGUES, C.M. Leite instável não-ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, n.5, p.835- 840, 2006.
- ZANELA, M. B. et al. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, n. 4, p. 1009-1013. 2009.

**APLICAÇÃO DA TÉCNICA LIBS PARA DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR DE  
ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EM AMOSTRAS DE PERCOLADO  
LÍQUIDO**

C.R. Menegatti<sup>1,\*</sup>, B.S. Marangoni<sup>2</sup>, G. Nicolodelli<sup>2</sup>, H. J. I. Filho<sup>1</sup>, A. A. P. Xavier<sup>3</sup>, P. R. Villas-Boas<sup>3</sup>, D. M. B. P. Milori<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Escola de Engenharia de Lorena - DEBAS, Estrada Municipal do Campinho s/n, CEP: 12602-810, Lorena, SP*

<sup>2</sup> *UFMS – Instituto de Física, Av. Costa e Silva, s/nº, CEP 79070-900, Campo Grande, MS*

<sup>3</sup> *EMBRAPA - Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1.452, CEP: 13560-970, São Carlos, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: renatomenegatti@usp.br*

**Resumo:** Neste trabalho mostraremos resultados preliminares da aplicação da técnica LIBS (*Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*) de pulso simples (SP) e duplo pulso (DP), para detecção simultânea de elementos potencialmente tóxicos em amostras de percolado líquido. As amostras foram contaminadas artificialmente com concentrações específicas dos seguintes elementos: Pb, As, Zn e Mn. Os resultados mostram que é possível resolver as linhas espectrais desses elementos, mesmo em baixas concentrações ( $\sim 5 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) e faz um comparativo entre as linhas medidas com a técnica SP e DP. Com estes resultados esperamos criar curvas de calibração correlacionando as intensidades do LIBS com medidas de concentração de referência feitas pela técnica ICP-OES. O trabalho também tem como objetivo criar um modo mais rápido, robusto e econômico para análises de amostras em comparação com as técnicas tradicionais (ICP-OES e EDS) utilizadas atualmente.

**Palavras-chave:** LIBS, Duplo Pulso, Pb, As, Zn, Mn, Percolado Líquido.

**LIBS APPLICATION FOR MULTIELEMENTARY DETERMINATION OF POTENTIAL TOXIC ELEMENTS IN LANDFILL LEACHATES**

**Abstract:** In this work we will show preliminary results from the application of the single pulse (SP) and double pulse (DP) laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) technique for simultaneous detection of potential toxic elements in landfill leachates. The samples were artificially contaminated with specific concentrations of the following metals: Pb, As, Zn, Mn. The results show that the spectral lines of these elements can be resolved even at low concentrations ( $\sim 5 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) and compares the sensibility of the SP and DP technique. In the future, we expect to create calibration curves correlating LIBS intensities with reference concentration measurements made by the ICP-OES technique. The work also aims to create a faster, more robust and economical mode for sample analysis compared to the traditional techniques (ICP-OES and EDS) currently used.

**Keywords:** LIBS, Double Pulse, Pb, As, Zn, Mn, Landfill Leachate.

**1. Introdução**

Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) (Noll, 2012; Hahn et al. 2010, 2012; Zorov et al. 2015) é uma técnica espectroscópica de emissão atômica em que uma nuvem de plasma é gerada pela incidência de um pulso de laser intenso na amostra. Este pulso faz com que átomos e íons desprendidos produzam um espectro que permite a identificação da composição da amostra. A técnica de LIBS foi adaptada e aprimorada ao longo dos anos para analisar materiais sólidos, líquidos, e gasosos em diversas condições experimentais, e encontramos hoje até mesmo instrumentos portáteis capazes de realizar análises em tempo real. A aplicação de LIBS é tão global que a Agência Espacial Americana (NASA) a utiliza atualmente para análise do solo de Marte.

Atualmente existem diversas técnicas analíticas como por exemplo: espectroscopia de absorção atômica (AAS), espectroscopia de raio-X, espectroscopia de emissão atômica (ICP-AES),



e espectrometria de massa com fonte de plasma (ICP-MS). Com relação a estas técnicas analíticas tradicionais, LIBS apresenta várias vantagens, incluindo a não necessidade de pré-tratamento de amostras, produção de resíduos, micro-destrutividade, micro-invasão, facilidade de aplicação, robustez, versatilidade, capacidade de análise multielementar e outros. LIBS tem sido aplicado em vários campos, incluindo a determinação de metais pesados em amostras agro-ambientais, como solos, fertilizantes e agora, com este trabalho, em percolados líquidos (Menegatti et al. 2017, 2019).

Percolado líquido (chorume) é a fração líquida resultado da decomposição do lixo. O material percolado, proveniente de aterros sanitários pode conter grande quantidade de matéria orgânica recalcitrante e também elementos tóxicos como por exemplo cádmio (Cd), chumbo (Pb) e arsênico (As) tornando-se perigoso para flora e fauna dos arredores. A água de escoamento destes solos pode até contaminar os corpos d'água mais próximos com esses elementos. Assim, para tomar precauções necessárias e avançar com medidas de tratamento, o monitoramento dos solos com relação a presença e concentração desses contaminantes torna-se essencial.

Este trabalho tem como objetivo quantificar o potencial do LIBS em determinar simultaneamente elementos específicos em amostras de percolado líquido. As medidas com o LIBS serão correlacionadas com medidas feitas com ICP-AES de modo a produzirmos curvas de calibração para determinarmos os limites de detecção da técnica para cada elemento. Na apresentação, iremos mostrar resultados preliminares da medida de LIBS nessas amostras. A pré-análise desses dados mostram resultados otimistas criando possibilidades reais para aplicação de LIBS para quantificar as concentrações dos elementos contidos nas amostras. Detalhes sobre esta primeira etapa de análise serão discutidos neste trabalho.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Preparação das amostras**

O percolado foi coletado no aterro sanitário de Cachoeira Paulista - São Paulo, preparado e pré-analisado no Laboratório de Absorção Atômica do DEQUI-EEL USP. O LIBS da EMBRAPA está configurado para análise de amostras sólidas em forma de pastilhas, assim visto que a forma natural do percolado é líquida, a amostra original foi preparada seguindo o procedimento a descrito a seguir: (a) primeiro, o percolado líquido foi submetido a um processo de destilação para separar os líquidos voláteis (água e frações N-NH<sub>3</sub>) do soluto não volátil, criando um resíduo concentrado semi-sólido; (b) o resíduo foi então seco numa estufa a 120 ° C durante 40 min, de modo a reduzir a massa do líquido residual para aproximadamente 2% do valor inicial, aumentando assim em 50 vezes as concentrações de solutos na amostra; (c) a concentração dos elementos: Mn, As, Pb e Zn no resíduo foram determinadas por análise de ICP - OES utilizando o equipamento Perkin Elmer Optima 8000; (d) foi verificado que a concentração destes elementos estava abaixo do limite de detecção do equipamento, assim foram adicionados a amostra concentrações conhecidas dos mesmos criando um conjunto de amostras artificialmente contaminadas no intervalo de 400 a 5 mg.Kg<sup>-1</sup>.

### **2.2. Setup Experimental**

O LIBS utilizado possui dois lasers pulsados, um gerador de delay e espectrômetro. Na técnica SP, basicamente um pulso de laser (modelo Nd: YAG Q-switched -Quantel, Brillant) incide na amostra criando um plasma muito aquecido (~ 10.000 K), como exemplo temos a Figura 1. Na técnica DP, um segundo pulso de laser é adicionado ao setup, seu pulso é sincronizado com o primeiro laser de modo a atingir o plasma reaquecendo-o. Em ambas as técnicas conforme o plasma esfria seus átomos e íons vão emitindo fótons em comprimento de onda específicos que são coletados pelo espectrômetro (modelo: Echelle -Aryelle Butterfly, LTB Laser Techniki Berlin). Neste espectrômetro podemos medir comprimentos de onda que vão de 180 a 800 nm com precisão de 10 pm. O gerador de delay serve para criar um atraso (*delay*) entre a geração do plasma e o momento da detecção e também um atraso entre os pulsos no caso do LIBS DP (*interpulse delay*), permitindo eliminar ruídos causados pela radiação contínua de fundo melhorando a relação sinal/ruído do LIBS. Em nossas medidas os *delays* para o LIBS SP e DP foram: 200 e 1200 ns para

região do UV e Visível respectivamente. Para o LIBS DP foi utilizado um *interpulse delay* de 500 ns.

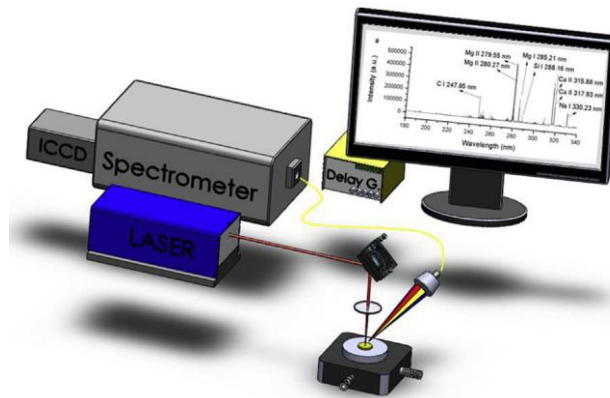


Figura 1. Aparato experimental do LIBS.

### 3. Resultados e Discussão

Os resultados preliminares (Figura 2) mostram as principais linhas dos elementos Mn, Zn, As e Pb medidos com o LIBS SP (linha tracejada) e LIBS DP (linhas sólida). Outras linhas também foram observadas nos espectros, são elas: MnII 259,37 e 260,56 nm; ZnI 213,85 nm e AsI 234,98 nm. As linhas de emissão mostradas na figura 2 foram obtidas pelas medidas nas amostras de maior concentração (~ 400 mg.Kg<sup>-1</sup>). Nelas podemos observar um aumento de sensibilidade entre as duas técnicas DP e SP por pelo menos um fator de 2,5. Estas mesmas linhas foram observadas para concentrações de até 5 mg.Kg<sup>-1</sup>, com a técnica DP, e 25 mg.Kg<sup>-1</sup>, com a técnica SP. Todas os espectros foram obtidos a partir de condições otimizadas para o delay time e delay interpulse (no caso do LIBS DP). A figura 3 mostra um exemplo do efeito do delay time nas medidas com LIBS SP para região do visível, neste caso específico temos a linha do PbI 405,78 nm em destaque. Observamos uma expressiva melhora da relação sinal/ruído para delays em torno de 1250 ns. Outras medidas e detalhes serão mostrados na apresentação.

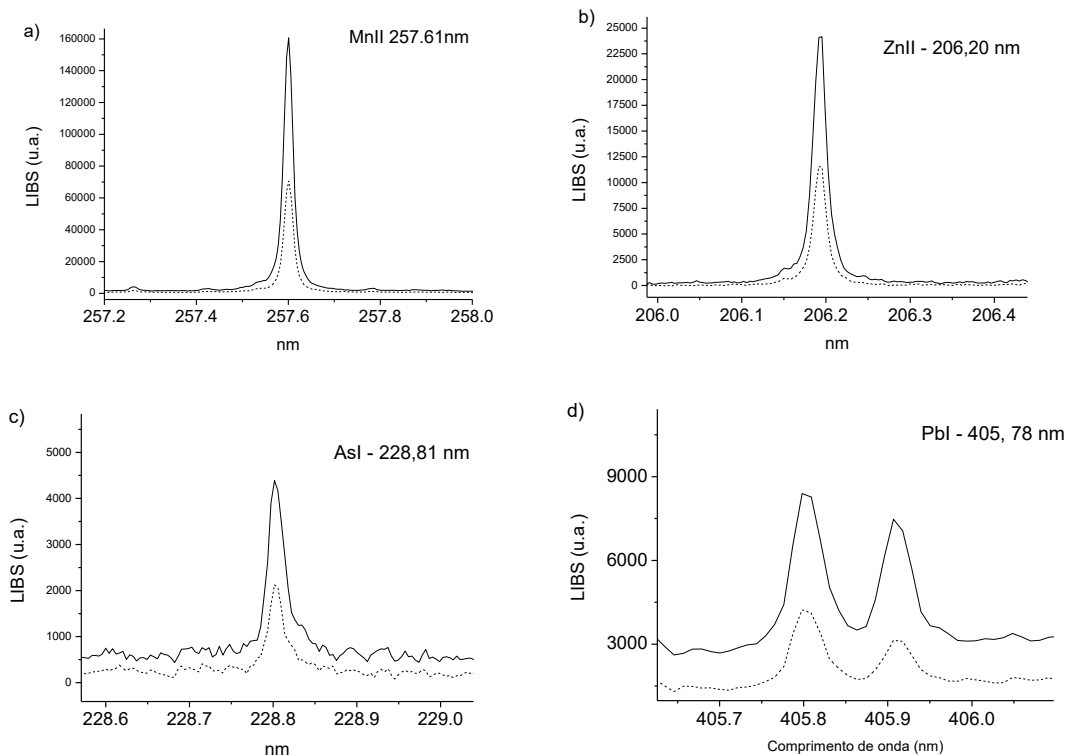


Figura 2. Linhas de emissão dos elementos a) Mn, b) Zn, c) As e d) Pb medidos com o LIBS SP (linha tracejada) e LIBS DP (linhas sólida).

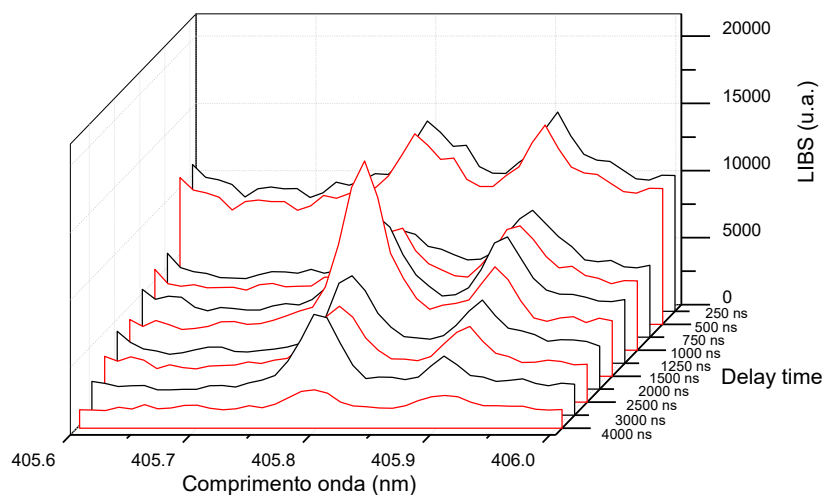


Figura 3. Espectro do LIBS SP em função do delay time na região do visível. Linha de emissão em destaque: PbI 405,78 nm.

#### 4. Conclusões

Neste trabalho foram apresentados resultados preliminares para uma possível quantificação multielementar de elementos potencialmente tóxicos em amostras de percolados líquidos. As linhas de emissão dos 4 elementos puderam ser medidas simultaneamente em praticamente todo o intervalo de concentrações proposto 400 a 5 mg.Kg<sup>-1</sup> com a técnica DP. Um modelo multivariacional está sendo desenvolvido para produzirmos uma curva de calibração e determinarmos o limite de detecção do LIBS na matriz de percolado. Considerando que as amostras sólidas analisadas no LIBS estão concentradas por um fator de 50, esperamos ser capazes de obter LODs abaixo dos VPNS estabelecidos para cada metal.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP (2017/19248-3) e CNPq (461743/2014-0, 312376/2017-0, 150087/2017-9) pelo suporte financeiro para este trabalho.

#### Referências

- 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. *Appl. Spectrosc.* **64**, 335A–366A (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. *Appl. Spectrosc* **66**, 347–419 (2012)
- Menegatti C.R., Nicolodelli G., Senesi G.S., da Silva O.A., Filho H.J.I., Villas Boas P.R., Marangoni B.S., Milori D.M.B.P. Semiquantitative analysis of mercury in landfill leachates using double-pulse laser-induced breakdown spectroscopy. *Appl. Opt* **56**, 3730–3735 (2017)
- Menegatti C.R., Nicolodelli G., Senesi G.S., da Silva O.A., Filho H.J.I., Villas Boas P.R., Marangoni B.S., Milori D.M.B.P. Evaluation of LIBS under controlled atmosphere to quantify Cadmium at low concentration in landfill leachates. *Applied Physics B* (2019) 125:74
- Noll R. *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: Fundamentals and Applications* (Springer, Berlin, 2012)
- Zorov N.B., Popov A.M., Zaytsev S.M., Labutin T.A. Russ. Qualitative and quantitative analysis of environmental samples by laser-induced breakdown spectrometry. *Chem.Rev.* **84**, 1021–1050 (2015)



**ANÁLISE DE CARNE E GORDURA BOVINA USANDO TÉCNICAS BIDIMENSIONAIS  
DE RMN NO DOMÍNIO DO TEMPO**T. Monaretto<sup>1,\*</sup>, L. A. Colnago<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Av. Trabalhador São-carlense, 400, 13566-590, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: [tatiana.monaretto@gmail.com](mailto:tatiana.monaretto@gmail.com)

**Resumo:** Neste trabalho estamos demonstrando a viabilidade de se usar método bidimensional (2D) de Ressonância Magnética Nuclear, no Domínio do Tempo (RMN-DT), para determinação do teor de gordura em carnes bovinas, diretamente na carne intacta e sem necessidade de calibração com método de referência padrão. O método é baseado na sequência de pulsos 2D conhecida como Inversão-Recuperação-Carr-Purcell Meiboom-Gill (IR-CPMG), que gera mapas de correlação entre os tempos de relaxação longitudinal ( $T_1$ ) e transversal ( $T_2$ ). Os resultados mostraram que nos mapas bidimensionais é possível separar facilmente os sinais relacionados com a água na carne e os com a gordura (essa separação não é observada quando são utilizados métodos de análises unidimensionais de  $T_1$  ou  $T_2$ ). Com isso, pode-se mensurar o teor de gordura usando a razão entre as áreas dos sinais de gordura e dos outros componentes da carne. Além disso, essa técnica demonstrou ser simples, uma vez que não demanda curva de calibração para determinar o teor de gordura e não requer etapas de preparação da amostra com reagentes prejudiciais à saúde, como os métodos de extração por solvente ou fluídos supercríticos. Ainda, os experimentos IR-CPMG podem ser realizados em equipamentos de RMN de bancada de baixo custo.

**Palavras-chave:** RMN no domínio do tempo, Sequência de pulso bidimensional, Relaxação longitudinal, Relaxação transversal.

**ANALYSIS OF BEEF AND BEEF FAT USING TWO-DIMENSIONAL TD-NMR**

**Abstract:** In this work we are demonstrating the use of two-dimensional (2D) Time-Domain Nuclear Magnetic Resonance (TD-NMR) to determine the fat content in beef, directly in intact meat and without calibration with standard reference method. The method is based on the 2D pulse sequence known as Inversion-Recovery-Carr-Purcell Meiboom-Gill (IR-CPMG), which generates correlation maps between longitudinal ( $T_1$ ) and transverse ( $T_2$ ) relaxation times. The results showed that in the two-dimensional maps it is possible to easily separate signals related to water into the meat and those ones related to fat (this separation is not observed when using one-dimensional  $T_1$  or  $T_2$  analysis methods). Therefore, it is possible to measure fat content using the ratio between fat area signals and other components of meat. In addition, this technique has been shown to be simple since it does not require a calibration curve to determine fat content and also does not require sample preparation steps with unhealthy reagents such as solvent or supercritical fluid extraction methods. Furthermore, the IR-CPMG experiments can be performed at low-cost in benchtop TD-NMR equipment.

**Keywords:** Time domain NMR, Bidimensional pulse sequence, Longitudinal relaxation time, Transverse relaxation time.

**1. Introdução**

O consumidor normalmente avalia a qualidade da carne bovina pelas suas propriedades sensoriais tais como maciez, suculência, entre outros fatores. Estas características por sua vez estão diretamente associadas ao teor de gordura e aos diferentes ambientes químicos em que a água se

encontra na carne: livre, em interação com as miofibrilas, em complexos supramoleculares e em metabólitos solúveis (JÚNIOR *et al.*, 2011). A gordura da carne bovina apresenta na maior parte da sua composição ácidos graxos insaturados, em especial o ácido linolênico conjugado - CLA, (KODANI *et al.*, 2017). Este ácido graxo tem recebido uma atenção especial nos últimos anos porque por ele ser anticarcinogênico, imunoestimulador, e antioxidante (MARIA *et al.*, 2010; MOREIRA *et al.*, 2015). Todavia, estudos têm demonstrados que o consumo excessivo de gordura bovina podem trazer riscos à saúde podendo levar a obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes e alguns tipos de câncer (ALMEIDA *et al.*, 2006; MINISTÉRIO, 2015).

Devido à está crescente busca por informações, referente aos teores e a caracterização da gordura intramuscular da carne bovina, várias técnicas têm sido propostas para determinação de gordura em carne bovina. Dentre elas estão o método clássico de determinação do teor de gorduras, a extração lipídica pelo método Soxhlet (ALMEIDA *et al.*, 2006), a extração por fluido supercrítico (KING *et al.*, 1996), a Ressonância Magnética Nuclear de alta resolução em alto campo (RMN-AR)(MARIA *et al.*, 2010), entre outros. Contudo, esses métodos são demorados, requerem grandes quantidades de solventes orgânicos e/ou necessitam de pré-processamentos da amostra e/ou apresentam alto custo, seja devido aos reagentes ou aos equipamentos necessários para sua realização. Uma alternativa que tem sido proposta é a utilização da RMN em baixo campo, também conhecida como RMN no domínio do tempo (RMN-DT), para a determinação rápida e não-destrutiva do teor de gordura em carne bovina, suínas e de aves. Esse tipo de análise é realizada em um espectrômetro de RMN baseado com ímãs permanentes (campos inferiores a 0,7 T ~ 30 MHz para o  $^1\text{H}$ ) de baixa homogeneidade, que não necessitam de manutenção com líquidos criogênicos, como os espectrômetros de RMN-AR. Além disso, este método não necessita de solventes orgânicos e, geralmente, não requer preparo da amostra. Esses fatores têm favorecido a aplicação da RMN-DT tanto em processos industriais quanto na área acadêmica e até mesmo como técnica substituta à métodos laboriosos e tradicionais (De ANDRADE e COLNAGO, 2012; COLNAGO *et al.*, 2014).

Na RMN-DT a maioria dos estudos são realizados com base na intensidade do sinal do FID (*Free Induction Decay*) ou eco de spins e nos tempos de relaxação longitudinal ( $T_1$ ) e transversal ( $T_2$ ). O tempo de relaxação  $T_1$  é normalmente determinado pelo método unidimensional (1D) Inversão Recuperação (IR) (VOLD *et al.*, 1968) ou Saturação Recuperação (SR)(MARKLEY *et al.*, 1971). Já a mensuração da relaxação  $T_2$  (1D) é feita com a sequência de pulso denominada de Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) (MEIBOOM e GILL, 1958). Outros métodos alternativos têm sido empregados para determinar as constantes de tempo  $T_1$  e  $T_2$ . Dentre esses destacam-se os métodos provenientes da condição CWFP (*Continuous Wave Free Precession*) (VENANCIO *et al.*, 2005). Recentemente, foi desenvolvida uma sequência de pulso CWFP-1D, com pulsos de baixo ângulo de *flip*, denominada de CWFP- $T_1$ . Esta sequência permite a determinação de  $T_1$  em uma única varredura e foi aplicada com sucesso para a determinação do teor de gordura em carnes bovinas (MORAES *et al.*, 2016). Entretanto, como as distribuições dos tempos de relaxação 1D da água e gordura se sobrepõem, é necessário a elaboração de uma curva de calibração e um estudo prévio do sistema utilizando um método padrão com a extração em Soxhlet. Para evitar esse procedimento de calibração com método externo estamos propondo neste trabalho o uso dos dados de correlação bidimensional (2D) de  $T_1$  e  $T_2$ , os quais permitem que se tenha uma clara separação entre os sinais da água e gordura. Portanto, este trabalho teve como objetivo aplicar o método 2D de RMN-DT que correlaciona  $T_1$ - $T_2$  para análise de gordura bovina, baseando-se no fato de que métodos 2D fornecem informações mais completas do que os de 1D, tornando desnecessário a construção de curvas de calibração.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Amostras

Foram analisadas neste trabalho amostras de carne com gordura na proporção 1:1 (carne: gordura), denominada de carne com alto teor de gordura (CATG) e gordura bovina desidratada a vácuo (GPS). Essas amostras foram adquiridas no mercado local.

## 2.2. Equipamento

Para a realização das análises foi utilizado um espectrômetro de RMN-DT Minispec mq 20 (Bruker, Alemanha) operando com uma frequência de 19,9 MHz para o  $^1\text{H}$  (0,47 T) com sonda de 10 mm e pulsos de  $10^\circ$ ,  $90^\circ$  e  $180^\circ$  com larguras de 2, 18 e 35  $\mu\text{s}$ , respectivamente, para a atenuação de pulso igual a 28 dB. Todos os experimentos foram realizados a  $25 \pm 1$   $^\circ\text{C}$ .

## 2.3. Sequências de pulsos/inversão dos sinais

A sequência de pulso utilizada, para determinação da correlação bidimensional (2D) de  $T_1$  e  $T_2$ , foi a IR-CPMG (SONG *et al.*, 2002). Neste método a dimensão indireta é representada pela sequência IR e a dimensão direta é gerada pela sequência de pulsos CPMG, ou seja, os sinais são adquiridos somente entre os pulsos da sequência CPMG.

A inversão dos dados bidimensionais foi realizada com o algoritmo *Fast Laplace Inversion* (FLI) e utilizando parâmetro  $\alpha = 2$  (SONG *et al.*, 2002; VENKATARAMANAN *et al.*, 2002).

## 3. Resultados e Discussão

Na Figura 1 (a) é ilustrado o mapa de correlação bidimensional  $T_1$ - $T_2$  da amostra de carne com alto teor de gordura (CATG) obtido com a sequência de pulsos IR-CPMG. Nesta figura pode-se observar um sinal com correlação  $T_1$ - $T_2$  de 215 - 130 ms (denominada de componente  $T_a$ ), o qual está correlacionado com a água ligada nas miofibrilas (RENOU J *et al.*, 1985; BERTRAM *et al.*, 2002). O sinal com correlação  $T_1$ - $T_2$  de aproximadamente 20 - 7 ms está correlacionado à água ligada a proteínas, conforme relatado por Bertram *et al.* (2002) e Renou *et al.* (1985).

Na Figura 1 (a), também podem ser observados os sinais com correlação  $T_1$ - $T_2$  de 430 - 305 ms (componente  $T_c$ ) e 135 - 85 ms (componente  $T_b$ ) que são assinalados a gordura. Esta associação está de acordo com a literatura, visto que, é comum encontrar dois sinais nas distribuições dos tempos de relaxação de lipídios, os quais são relativos às diferentes mobilidades ao longo da cadeia dos alifática dos ácidos graxos (BERMAN *et al.*, 2015). Estas informações não estão evidentes em espectros da distribuição dos tempos de relaxação 1D (MORAES *et al.*, 2016; MONARETTO *et al.*, 2019), visto que os sinais da gordura geralmente estão sobrepostos com o sinal da carne. A componente  $T_b$  se sobrepõe na distribuição 1D de  $T_2$  com o sinal da carne e a componente  $T_c$  se sobrepõe com o sinal de carne na distribuição 1D de  $T_1$  (MORAES *et al.*, 2016; MONARETTO *et al.*, 2019). Os resultados associados a gordura foram confirmados pela análise da gordura bovina pura, sendo que os mapas 2D para essa amostra está na Figura 1 (b). Este mapa demonstra que a gordura bovina é composta por dois sinais com valores da correlação  $T_1$ - $T_2$  em aproximadamente 190 - 120 ms (componente  $T_c'$ ) e 76 - 40 ms ( $T_b'$ ).

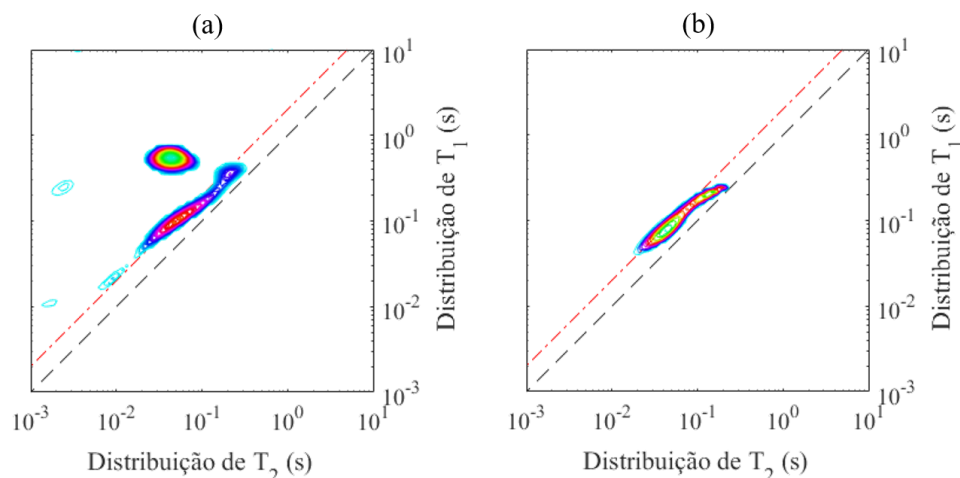


Figura 5. Mapas 2D obtidos dos sinais adquiridos pela sequência de pulso IR-CPMG para a amostra de CATG (a) e GPS (b). Para a obtenção desses mapas foi utilizado o método de processamento FLI. As linhas tracejadas em preto e vermelho indicam a região do mapa onde a  $T_1/T_2$  é igual a 1 e 2, respectivamente.

Utilizando a área dos picos das componentes da gordura (componentes  $T_b$  e  $T_c$  da Figura 1 (a)) foi possível determinar a percentagem de gordura da amostra CATG, sendo encontrado um teor de 45%. Esses valores estão de acordo com a proporção da amostra (1:1 carne: gordura). Também foi possível determinar pelas áreas dos sinais  $T_b'$  e  $T_c'$ , dos mapas obtidos para a amostra de gordura pura (Figura 1 (b)), a percentagem de cada componente presente na gordura, sendo encontrado valores de 27 e 73%, respectivamente.

#### 4. Conclusões

A sequência de pulso IR-CPMG demonstrou ser um bom método para determinação do teor de gordura em carne bovina, e os resultados obtidos estão de acordo como o teor de gordura usado no preparo da amostra. Além do mais, a sequência IR-CPMG é uma técnica simples, visto que este não necessita de curva de calibração para determinar o teor de gordura e também não requer etapas de preparação da amostra.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro por meio do processo de financiamento 1541262 e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) também pelo financiamento por meio do processo 2017/12864-0 e 2019/13656-8.

#### Referências

- ALMEIDA, J. C. D. et al. Fatty acid composition and cholesterol content of beef and chicken meat in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, n. 1, p. 109-117, 2006.
- BERMAN, P. et al. Study of liquid-phase molecular packing interactions and morphology of fatty acid methyl esters (biodiesel). *Biotechnology for Biofuels*, v. 8, p. 16, Feb 2015.
- BERTRAM, H. C. et al. Continuous distribution analysis of T2 relaxation in meat—an approach in the determination of water-holding capacity. *Meat Science*, v. 60, n. 3, p. 279-285, 2002.
- COLNAGO, L. et al. Why is Inline NMR Rarely Used as Industrial Sensor? Challenges and Opportunities. *Chemical Engineering & Technology*, v. 37, n. 2, p. 191-203, 2014.
- DE ANDRADE, F. D.; COLNAGO, L. A. USE OF NMR AS AN ONLINE SENSOR IN INDUSTRIAL PROCESSES. *Quimica Nova*, v. 35, n. 10, p. 2019-2024, 2012.
- JÚNIOR, D. M. D. L. et al. ALGUNS ASPECTOS QUALITATIVOS DA CARNE BOVINA: UMA REVISÃO. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 5, n. 4, p. 351-358, 2011.
- KING, J. W. et al. Extraction of Fat from Ground Beef for Nutrient Analysis Using Analytical Supercritical Fluid Extraction. *Journal of Agricultural and food chemistry*, v. 44, n. 9, p. 2700-2704, 1996.
- KODANI, Y. et al. NMR-based metabolomics for simultaneously evaluating multiple determinants of primary beef quality in Japanese Black cattle. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1297, 2017.
- MARIA, R. M. et al. Fast and Simple Nuclear Magnetic Resonance Method To Measure Conjugated Linoleic Acid in Beef. *Journal of Agricultural and food chemistry*, v. 58, n. 11, p. 6562-6564, 2010.
- MARKLEY, J. L.; HORSLEY, W. J.; KLEIN, M. P. SPIN-LATTICE RELAXATION MEASUREMENTS IN SLOWLY RELAXING COMPLEX SPECTRA. *Journal of Chemical Physics*, v. 55, n. 7, p. 3604-&, 1971.
- MEIBOOM, S.; GILL, D. MODIFIED SPIN-ECHO METHOD FOR MEASURING NUCLEAR RELAXATION TIMES. *Review of Scientific Instruments*, v. 29, n. 8, p. 688-691, 1958.
- MINISTÉRIO, D. S. Saiba por que carne com gordura faz mal para a saúde. [Blog da Saúde: Ministério da Saúde](#). 2019 2015.
- MONARETTO, T.; SOUZA, A.; MORAES, T. B.; BERTUCCI-NETO, V.; RONDEAU-MOURO, C.; COLNAGO, L.A. Enhancing signal-to-noise ratio and resolution in low-field NMR relaxation measurements using post-acquisition digital filters, *Magnetic Resonance in*

Chemistry, v.57, p. 616-625, 2019.

- MORAES, T. B.; MONARETTO, T.; COLNAGO, L. A. Rapid and simple determination of  $T_1$  relaxation times in time-domain NMR by Continuous Wave Free Precession sequence. *Journal of Magnetic Resonance*, v. 270, p. 1-6, 2016.
- MOREIRA, J.; KLEIN, P.; ARALDI, D. F. Fatores que interferem no perfil dos ácidos graxos da carne bovina: revisão de literatura. XX Seminário Interinstitucional de ensino, pesquisa e extensão. UNICRUZ. Rrio grande do Sul 2015.
- RENOU J, P.; KOPP, J.; VALIN, C. Use of low resolution NMR for determining fat content in meat products. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 20, n. 1, p. 23-29, 1985.
- SONG, Y. Q. et al.  $T_1$ - $T_2$  Correlation Spectra Obtained Using a Fast Two-Dimensional Laplace Inversion. *Journal of Magnetic Resonance*, v. 154, n. 2, p. 261-268, 2002.
- VENANCIO, T. et al. Fast and simultaneous measurement of longitudinal and transverse NMR relaxation times in a single continuous wave free precession experiment. *Journal of Magnetic Resonance*, v. 173, n. 1, p. 34-39, 2005.
- VENKATARAMANAN, L.; SONG, Y.-Q.; HURLIMANN, M. D. Solving Fredholm integrals of the first kind with tensor product structure in 2 and 2.5 dimensions. *IEEE Transactions on Signal Processing*, v. 50, p. 1017-1026, 2002.
- VOLD, R. L. et al. MEASUREMENT OF SPIN RELAXATION IN COMPLEX SYSTEMS. *Journal of Chemical Physics*, v. 48, n. 8, p. 3831-&, 1968.

**QUANTIFICAÇÃO DO CARBONO ORGÂNICO DO SOLO E DA TEXTURA POR MEIO  
DA ANÁLISE MULTIVARIADA DE IMAGENS**

P. A. O. Morais<sup>1,\*</sup>, D. M. Souza<sup>1</sup>, M. T. Carvalho<sup>2</sup>, B. E. Madari<sup>2</sup>, A. E. Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química, Avenida Esperança, 74690-900, Goiânia, Goiás

<sup>2</sup> Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462, km 12, 75375-000, Santo Antônio de Goiás, Goiás

\* Autor correspondente, e-mail: pedro\_augusto\_04@hotmail.com

**Resumo:** O carbono orgânico e a textura do solo são parâmetros de fertilidade que influenciam processos físicos, químicos e biológicos no solo. A determinação desses parâmetros é realizada, geralmente, por meio de métodos laboriosos e que utilizam reagentes de alta toxicidade. Diante disso, o objetivo deste estudo é propor um método baseado na análise de imagens digitais sem o uso de reagentes químicos e de menor custo e tempo de operação. Para isso, 177 amostras de solo foram coletadas, secas, moídas e analisadas usando os métodos padrão (referência). Em seguida, imagens digitais foram obtidas para cada amostra de solo por meio de um *scanner* comercial. Histogramas de frequência de cor de cada imagem foram extraídas e posteriormente correlacionadas com os teores de argila, areia e carbono orgânico do solo por meio dos métodos: PLS, SPA-MLR e LS-SVM. Os modelos de predição apresentaram RPD superiores a 3, que podem ser considerados como predições de alta qualidade. Após a predição da areia e argila, as amostras foram classificadas em grupos texturais. Essa classificação obteve um índice de acerto de 100% em relação a classificação dada pela metodologia convencional. Diante disso, os métodos propostos baseados na análise de imagens são eficientes, além de serem baratos e de eliminarem o passivo ambiental da análise.

**Palavras-chave:** Carbono orgânico do solo, Textura do solo, Imagens digitais, Scanner, Análise multivariada de imagens.

**QUANTIFICATION OF ORGANIC CARBON AND SOIL TEXTURE BY MULTIVARIATE  
IMAGE ANALYSIS**

**Abstract:** Soil organic carbon and texture are fertility parameters that influence physical, chemical and biological processes in the soil. The determination of these parameters is generally performed by laborious methods that use toxic reagents. The objective of this study is to propose a method based on digital image analysis that is more agile, low cost, and uses no chemical reagents. One hundred seventy-seven (177) soil samples were collected, dried, ground and analyzed. Posteriorly, digital images were obtained for each soil sample by a scanner. Color frequency histograms of each image were extracted and then correlated to clay, sand and soil organic carbon contents by three methods: PLS, SPA-MLR and LS-SVM. The prediction models showed an RPD higher than 3, indicating high-quality predictions. After sand and clay prediction, the soil samples were classified into textural groups. This classification obtained a 100% hit ratio in relation to the classification by the conventional methodology. Therefore, the proposed methods based on image analysis are efficient, besides being cheap and clean.

**Keywords:** Soil organic carbon, Soil texture, Digital image, Scanner, Multivariate image analysis.

**1. Introdução**

A textura e o carbono orgânico do solo (COS) são importantes parâmetros de fertilidade. O COS está relacionado a diversos processos físicos, químicos e biológicos do solo (SILVA; MENDONÇA, 2007), assim como a algumas propriedades, como a estruturação (OADES, 1993; BRONICK, 2005), a capacidade de retenção de água (LADO et al., 2004) e a coloração

(VISCARRA ROSSEL et al., 2006; BAUMGARDNER et al., 1969). Já a textura do solo consiste na proporção dos diferentes tamanhos de partículas minerais: areia, silte e argila, inferiores a 2 mm (GEE; BAUDER, 1986). De acordo a proporção dessas partículas é possível classificar o solo em classes texturais (DAVIS; BENNETT, 1927). A textura do solo além de ser um indicador para as práticas de cultivo e conservação do solo, também influencia a mobilidade dos nutrientes do solo e a produtividade agrícola (KETTLER et al., 2001).

Geralmente, a determinação do COS e da textura do solo são realizados utilizando, respectivamente, os métodos Walkley-Black (WALKLEY; BLACK, 1934; TEIXEIRA et al., 2017) e o método da Pipeta (DAY, 1965 e TEIXEIRA et al., 2017). O método Walkley-Black consiste na utilização de dicromato de potássio em pH ácido para promover a oxidação do carbono orgânico presente no solo. Em seguida, o excedente de dicromato é quantificado por meio de titulação. O método da pipeta consiste na dispersão mecânica e estabilização da amostra por meio de agitador em uma solução dispersante, seguida da separação das frações por peneiramento (fração areia) e sedimentação (fração argila). Medição das frações separadas por meio de pesagem após secagem em estufa. A fração silte é obtida por diferença, deduzindo o peso da fração argila e areia do total da amostra do solo.

Ambos métodos, embora de baixo custo de implementação, apresentam baixa produtividade de ensaio. Além disso, em suas metodologias são empregados reagentes de alta toxicidade. Desse modo, além de promover um risco químico aos analistas, ao final do ensaio, há geração de resíduos químicos que carecem de tratamento antes do descarte.

Diante disso, com o intuito de aumentar a produtividade das análises de solo, promover um ambiente seguro para os laboratoristas e ainda diminuir o passivo ambiental das análises, este trabalho apresenta uma alternativa para a determinação da textura e do carbono orgânico do solo por meio da análise multivariada de imagens (MIA).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Amostragem

Neste trabalho, um conjunto de 177 amostras de solo, coletadas de três regiões do país: centro-oeste, norte e nordeste, foi utilizado. Após a coleta, as amostras foram secas em estufa à 48°C por 48 h, moídas e peneiradas a 2mm. A Tabela 1 apresenta a distribuição estatística dos parâmetros de fertilidade: carbono orgânico e textura do solo das amostras utilizadas.

Tabela 1. Atributos físicos e químicos das 177 amostras de solo.

Descrição estatística	Granulometria (%)			COS (g kg <sup>-1</sup> )
	Argila	Silte	Areia	
Média	41,8 ± 21,8	11,0 ± 11,5	47,3 ± 26,0	14,3 ± 10,0
Mediana	44,9	5,3	41,1	13,1
Máximo	81,5	41,5	99,8	47,6
Mínimo	0,6	0,0	0,8	0,6

### 2.2. Predição dos teores de COS por meio de imagens digitais

Após a coleta, secagem e moagem do solo, realizou-se a quantificação do COS de todas as amostras utilizando o método Walkley-Black. Posteriormente, de cada amostra de solo seca e moída, obtiveram-se 3 imagens digitais utilizando um *scanner* de mesa HP Scanjet G4050. A obtenção das imagens foi realizada utilizando uma placa de Petri de vidro. As imagens foram obtidas com resolução de 300 dpi e em formato (*Tagged Image File Format*).

A partir de cada imagem, realizou-se a extração de histogramas de frequência de cor referente aos canais: vermelho (R - *Red*), verde (G - *Green*), azul (B - *Blue*), matiz (H - *Hue*), saturação (S - *Saturation*), intensidade (I - *Intensity*) e escala cinza. Em seguida, os histogramas de cada canal foram fundidos, obtendo-se uma matriz de dados. Após a fusão dos dados, realizou-se a subdivisão das amostras entre os conjuntos de calibração e validação por meio do algoritmo SPXY

(*sample set partitioning based on joint x-y distances*) (GALVÃO et al., 2005), que separa as amostras de acordo com suas distâncias Euclidianas. Dessa forma, 124 amostras foram designadas para calibração e 53 para validação.

Por último realizou-se a correlação dos dados referentes às imagens com as partículas físicas: areia e argila, e com os teores de COS utilizando os métodos lineares: mínimos quadrados parciais (PLS - *Partial Least Square*), algoritmo das projeções sucessivas associado a regressão linear múltipla (SPA-MLR – *Successive Projections Algorithms - Multiple Linear Regression*) e o método não linear: máquina de vetores suporte por mínimos quadrados (LS-SVM - *Least-Squares Support-Vector Machines*).

### 2.3. Predição da textura do solo por meio de imagens digitais

Sessenta e três amostras de solo foram utilizadas para predição da textura do solo. Primeiramente, determinaram-se os teores de argila e areia por meio do método da Pipeta. Posteriormente, as amostras foram classificadas em grupos texturais. A Tabela 2 apresenta as proporções de amostras para cada classe textural das 63 amostras utilizadas.

Tabela 2. Proporção de amostras para cada classe textural.

Classe Textural	Proporção de amostras (%)
Argila	73
Argila arenosa	5
Areia	2
Franco Argilo Arenosa	19
Franco Arenosa	2

De cada uma das 63 amostras secas e moídas, obtiveram-se 3 imagens digitais utilizando um microscópio estereoscópico Leica EZ4D com câmera acoplada. Primeiramente as amostras de solo foram transferidas para uma placa de Petri de vidro e em seguida dispostas no foco do microscópio. As imagens foram obtidas em formato TIFF e com resolução de 300 dpi. Após a aquisição das imagens, histogramas de frequência dos canais de cores: R, G, B, H, S, I e escala cinza foram obtidos e fundidos. Em seguida, utilizou-se o algoritmo Kennard-Stone (KENNARD; STONE, 1969) para separar as amostras entre calibração e validação. Por último, realizou-se a correlação dos dados de imagens com os teores de argila e areia utilizando o método PLS2.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Quantificação de COS por meio da MIA

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos para a predição do COS por meio dos métodos SPA-MLR, PLS e LS-SVM.

Tabela 3. Parâmetros estatísticos dos métodos SPA-MLR, PLS e LS-SVM para predição do COS

Método	NV <sup>a</sup>	LV <sup>b</sup>	R <sup>2</sup> <sub>cal</sub> <sup>c</sup>	RMSEC <sup>d</sup>	R <sup>2</sup> <sub>val</sub> <sup>e</sup>	RMSEP <sup>f</sup>	RPD <sup>g</sup>
SPA-MLR	23	-	0,6337	6,3	0,5628	5,8	1,5
PLS	-	25	0,8721	3,7	0,8603	3,5	2,7
LS-SVM	-	-	0,9598	2,3	0,9376	2,5	3,7

<sup>a</sup> Número de variáveis selecionadas pelo SPA

<sup>b</sup> Variáveis Latentes

<sup>c</sup> Coeficiente de correlação para calibração

<sup>d</sup> Erro médio quadrático de calibração (RMSEC - Root Mean Squared Error Calibration)

<sup>e</sup> Coeficiente de correlação para validação

<sup>f</sup> Erro médio quadrático de validação (RMSEP - Root Mean Squared Error Prediction)

<sup>g</sup> Desvio Residual de Previsão (RPD - Residual Prediction Deviation)



De acordo com a Tabela 3, o método LS-SVM apresentou a melhor performance na predição do carbono orgânico, apresentando um valor de RPD > 3,7, o que de acordo com Saeys et al. (2005) classifica o modelo de predição como excelente. De acordo com o teste-F com 95% de confiança, o valor de RMSEP calculado para o modelo LS-SVM é estatisticamente diferente dos valores de RMSEP determinados para os métodos PLS e SPA-MLR. Isto é, o LS-SVM apresenta uma precisão superior dentre os três métodos.

### 3.2. Quantificação dos teores de argila e areia por meio da MIA

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos para a predição dos teores de argila e areia por meio do método PLS2.

Tabela 4. Parâmetros estatísticos do método PLS2 para predição dos teores de argila e areia

Parâmetro	Método	LV <sup>a</sup>	R <sup>2</sup> <sub>cal</sub> <sup>b</sup>	RMSEC <sup>c</sup>	R <sup>2</sup> <sub>val</sub> <sup>d</sup>	RMSEP <sup>e</sup>	RPD <sup>f</sup>
Argila	PLS2	10	0,9333	4,9	0,9250	5,3	3,0
Areia	PLS2	10	0,9332	5,1	0,9307	5,1	3,3

<sup>a</sup> Variáveis Latentes

<sup>b</sup> Coeficiente de correlação para calibração

<sup>c</sup> Erro médio quadrático de calibração (RMSEC - Root Mean Squared Error Calibration)

<sup>d</sup> Coeficiente de correlação para validação

<sup>e</sup> Erro médio quadrático de validação (RMSEP - Root Mean Squared Error Prediction)

<sup>f</sup> Desvio Residual de Previsão (RPD - Residual Prediction Deviation)

De acordo com a Tabela 4, as predições de areia e argila por meio de imagens digitais apresentaram RPD  $\geq$  3,0, que segundo Saeys et al. (2005) classifica esses modelos de predição como excelentes. Posteriormente a determinação da textura do solo por meio de imagens digitais, realizou-se a classificação textural das amostras. Em seguida, comparou-se a classificação textural obtida por imagens digitais com as determinadas pelo método da Pipeta. A classificação utilizando imagens obteve uma taxa de acerto de 100% em relação ao método da Pipeta.

## 4. Conclusões

As metodologias de baixo impacto ambiental propostas para quantificação do COS e da textura do solo por meio de imagens digitais são simples, rápidas, de baixo custo e não destrutivas. Dentre os métodos de calibração multivariada, a ferramenta LS-SVM apresentou melhor performance que os métodos PLS e SPA-MLR na predição de COS. No caso da quantificação de argila e areia o PLS2 apresentou excelente resultado. A classificação textural por meio de imagens digitais alcançou uma taxa de acerto de 100% em relação à metodologia de referência: método da Pipeta.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro e bolsas de PQ2 (BEM) e Desenv. Tecn. e Extensão Inovadora (AEO).

## Referências

- BAUMGARDNER MF, KRISTOF S, JOHANNSEN CJ, ZACHARY A, Effects of organic matter on the multispectral properties of soils. In: Proceedings of the Indiana Academy of Science. 1969. p. 413-422.
- BRONICK CJ, RATTAN L, Soil structure and management: a review, Geoderma, v. 124, n. 1-2, 2005, p. 3-22.
- DAVIS ROE, BENNETT HH, Grouping of soils on the basis of mechanical analysis. Washington:

- US Dept. of Agriculture, 1927.
- DAY PR, Particle fractionation and particle-size analysis, American Society of Agronomy, 1965.
- GALVÃO RKH, ARAÚJO MCU, EMÍDIO G, PONTES MJC, SILVA EC, BEZERRA STC, A method for calibration and validation subset partitioning. *Talanta*, v. 67, n. 4, p. 736-740, 2005.
- GEE GW, BAUDER JW, *Methods of Soil Analysis, Part 1: Physical and Mineralogical Methods*, American Society of Agronomy, 1986.
- KENNARD RW, STONE LA, *Technometrics*, 11, 1969, 137.
- KETTLER TA, DORAN JW, GILBERT, TL, Simplified method for soil particle-size determination to accompany soil-quality analyses. *Soil Science Society of America Journal*, v. 65, n. 3, 2001, p. 849-852.
- LADO M, PAZ A, BEN-HUR M, Organic matter and aggregate-size interactions in saturated hydraulic conductivity. *Soil Science Society of America Journal*, v. 68, n. 1, 2004, p. 234-242.
- OADES JM, The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure. *Geoderma*, 1993. p. 377-400.
- SAEYS W, MOUAZEN AM, RAMON H, Potential for onsite and online analysis of pig manure using visible and near infrared reflectance spectroscopy. *Biosystems engineering*, v. 91, n. 4, 2005, p. 393-402.
- SILVA IR, MENDONÇA ES, *Fertilidade do Solo*, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007.
- TEIXEIRA, PC, DONAGEMMA, GK, FONTANA, A, TEIXEIRA WG, *Manual de métodos de análise de solo*. 3. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa Solos, 2017. ISBN 978-85-7035-771-7.
- VISCARRA ROSSEL RA, MINASNY B, ROUDIER P, MCBRATNEY AB, Colour space models for soil science. *Geoderma*, v. 133, n. 3-4, 2006, p. 320-337.
- WALKLEY A, BLACK IA, *Soil Science*, 37, 1934, p. 29.

**OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS QUE INFLUENCIAM AS ANÁLISES EM LIBS E  
DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE P EM  
SEDIMENTOS DOS RIOS TIETÊ E PIRACICABA**

C. P. Morais<sup>1,2,\*</sup>, M. C. Mitsuyuki<sup>2</sup>, K. S. G. Silva<sup>2,3</sup>, G. Nicolodelli<sup>4</sup>, S. Mounier<sup>5</sup>, D. M. B. P. Milori<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Química de São Carlos-USP, Avenida Trabalhador São Carlense, 400, 13566-590, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, km 235, s/n, 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>4</sup> Instituto de Física-UFMS, Av. Costa e Silva, s/n, 79070-900, Campo Grande, Mato Grosso do Sul

<sup>5</sup> Université de Toulon, Avenue de l'Université, 83130, La Garde, França

<sup>6</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: moraispcarla@gmail.com

**Resumo:** A presença de P em sedimentos em determinadas concentrações pode ser prejudicial ao sistema aquático, acelerando o processo de eutrofização dos rios. O método oficial para a determinação de P em sedimentos utiliza técnicas não consoante com a química verde. Dessa forma, a espectrometria de emissão ótica com plasma induzido por laser (LIBS) vem sendo explorada, porque possui vantagens por ser uma técnica multielementar, análise rápida, análise *in situ*, sem ou mínimo preparo da amostra, minimamente destrutiva e ambientalmente correta. Contudo, ela apresenta baixa sensibilidade quando comparada com as técnicas clássica, por isso, ainda é desafiador desenvolver modelos de calibração, uma vez que a técnica sofre com efeitos de matriz. Uma maneira de otimizar os parâmetros que influenciam as análises em LIBS e assim obter modelos de calibração adequados é utilizando planejamentos experimentais. Para a otimização dos parâmetros que influenciam as análises em LIBS foi utilizado o planejamento experimental delineamento composto central rotacional (DCCR). Para a determinação de P um modelo univariado foi desenvolvido. A curva analítica do P apresentou coeficiente de correlação de 0,900, sensibilidade de 0,031 mg Kg<sup>-1</sup>, faixa linear de trabalho de 801,81 - 5755,78 mg Kg<sup>-1</sup> e limite de detecção (LD) de 894 mg Kg<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** LIBS, sedimento, P, planejamento experimental.

**OPTIMIZATION OF THE PARAMETERS THAT INFLUENCE LIBS ANALYSIS AND  
DEVELOPMENT OF A METHOD FOR P DETERMINATION IN SEDIMENTS OF THE  
TIETÊ AND PIRACICABA RIVES**

**Abstract:** The presence of P in sediments at certain concentrations may be harmful to the aquatic system, accelerating the process of eutrophication of rivers. The official method for P determination in sediments uses techniques that are not consonant with green chemistry. Therefore, Laser-Induced Breakdown Spectroscopy has been explored, because it has the advantages of being a multi-elemental technique with rapid analysis, *in situ* analysis, without or with minimum sample preparation, minimally destructive and environmentally friendly. However, it has low sensitivity compared to classical techniques, so it is still challenging to develop calibration models, since this technique suffers from matrix effects. One way to optimize the parameters that influence LIBS analysis and thus obtain appropriate calibration models is by using experimental designs. In order to optimize the parameters that influence LIBS analyzes, the experimental designs central composite rotational design was employed. For P determination, a univariate model was developed. The P analytical curve showed correlation coefficients of 0.900, sensitivity of 0.031 mg Kg<sup>-1</sup>, linear work range of 801.81 - 5755.78 mg Kg<sup>-1</sup> and limit of detection of 894 mg Kg<sup>-1</sup>.

**Keywords:** LIBS, sediment, P, experimental design.

## 1. Introdução

Análise de sedimentos é uma forma eficiente para avaliar a qualidade dos recursos hídricos e obter informações a respeito das atividades antropogênicas, permitindo a tomada de medidas apropriadas para a remediação ambiental (CETESB, 2015). A presença de P, dependendo das concentrações, pode ser prejudicial ao sistema aquático, acelerando o processo de eutrofização dos rios (CETESB, 2013).

O método oficial para a determinação de P em sedimentos utiliza técnicas analíticas clássicas, como a espectrometria e titulometria, e como procedimento de preparo da amostra a decomposição por via úmida, assim gerando quantidades consideráveis de resíduos químicos (USEPA, 1996).

Dessa forma a técnica LIBS é uma alternativa às desvantagens associadas ao preparo de amostra, pois propicia a análise direta, dispensando, portanto, o uso de reagentes. No entanto, LIBS apresenta como limitações, quando comparado as técnicas analíticas clássicas, menor sensibilidade e dificuldades na quantificação devido a efeitos de matriz que prejudicam a calibração (RADZIEMSKI et al., 1989). Esse efeito é agravado para amostras complexas como sedimento, que apresentam composições bastante variadas com relação à textura, granulometria e composição química (FERREIRA et al., 2008).

Neste contexto, propomos a otimização dos parâmetros que influenciam as análises em LIBS utilizando o planejamento experimental DCCR, que permite maximizar ou minimizar algum tipo de resposta. E assim, possibilitando a determinação de P em sedimentos dos rios Tietê e Piracicaba nos seus compartimentos de entrada no reservatório de Barra Bonita-SP.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Coleta das amostras

As amostras de sedimento foram coletadas em sete diferentes pontos (estações) georreferenciados, sendo três estações no rio Tietê, três no rio Piracicaba e uma na região de confluência. Na Figura 1 é mostrada a localização das estações de coleta. As amostras foram coletadas com o auxílio do “Core Sampling”, que permite a coleta de testemunhos, que são sedimentos coletados nos tubos de perfuração e cortados transversalmente, que possibilita a manutenção da deposição original das camadas sedimentares. Os sete testemunhos foram cortados em diferentes tamanhos originando um total de 69 amostras.



Figura 1. Mapa com a localização das estações de coleta das amostras de sedimentos marcadas em vermelho (●).

### 2.2. Sistema LIBS

As amostras de sedimento foram analisadas utilizando um sistema LIBS composto por um laser pulsado de Nd:YAG Q-switched emitindo em 1064 nm, o qual opera com energia máxima por pulso de 50 mJ, duração de pulso de 8 ns e a taxa de repetição de 20 Hz. Um gerador de atraso de pulso com oito canais foi utilizado para o controle temporal entre o pulso de laser e o sistema de aquisição de dados. O sistema de detecção consiste em um espectrômetro de alta resolução,

operando em duas bandas espectrais, 175-330 nm (UV) e 275-750 nm (VIS), equipado com um dispositivo ICCD com 1024x1024 pixels.

### 2.3. Preparo das amostras

As amostras de sedimento foram liofilizadas, moídas, peneirada e pastilhas foram feitas utilizando uma prensa hidráulica, aplicando 5 t de pressão por 1 min.

### 2.3. Desenvolvimento do método para a determinação de P utilizando LIBS

Para otimizar os parâmetros instrumentais, que influenciam as análises de sedimentos em LIBS, foi utilizado o planejamento experimental DCCR em 5 níveis e foram executados 25 experimentos em ordem aleatória, sendo um no ponto central. Os parâmetros avaliados foram fluência do laser, tempo de atraso do espectrômetro, janela de integração e número de pulsos (Tabela 1). O DCCR foi feito utilizando-se uma amostra de sedimento com concentração média de P.

Tabela 1. DCCR com os níveis estudados para cada variável.

Fluência ( $J\ cm^{-2}$ )	Tempo de atraso (ns)	Janela de integração ( $\mu s$ )	Número de pulsos
350,5	200	1	1
370,9	500	5	3
431,0	900	11	6
468,7	1200	17	9
471,8	1500	20	10

Nos espectros obtidos com o DCCR, foi ajustada a linha de base e calculada a relação sinal ruído (S/R) para o P I 214,91 nm. Com os valores da relação S/R e utilizando o programa R versão 3.6.0 (R core team, 2016), modelo de regressão foi construído e os efeitos das variáveis envolvidas nos processos foram avaliados por análise de variância (efeitos quadráticos, lineares e interações). Também foi calculado o coeficiente de determinação relativo para cada efeito.

Após a otimização dos parâmetros, as amostras de sedimento foram analisadas em triplicata utilizando o sistema LIBS. Foram obtidos 45 espectros para a região do UV e 45 espectros para a região do VIS para cada amostra.

Após a aquisição dos espectros, utilizando o programa Libssa (STENIO et al., 2018), foi feita a exclusão de outliers empregando-se produto escalar, em seguida, foi feito um gráfico de correlação entre os pontos do espectro e as concentrações de P obtidas para cada amostra com espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

Para a construção da curva analítica de calibração e para a curva de validação, as amostras foram separadas em dois conjuntos de forma a conter 70 % das amostras no conjunto de calibração e 30% das amostras no conjunto de validação.

Posteriormente foi feito o ajuste da linha de base próximo à linha de emissão de P I 214,91 nm e a áreas sob a linha de emissão foi integrada utilizando a função Lorentz. Com os valores de área em triplicada foi calculado o valor de área média e foi construída uma curva analítica de calibração para o P, para isso, correlacionou-se o valor da área da linha de emissão de P com os valores de concentração de P determinado por ICP OES. O método proposto foi validado utilizando o conjunto de validação, para isso, construiu-se um gráfico com os valores de concentração de P predita pelos modelos de calibração em função da concentração de P determinada por ICP OES.

## 3. Resultados e Discussão

De acordo com o modelo de regressão construído a partir do DCCR, foi possível avaliar, os efeitos lineares, quadráticos e as interações entre os fatores, e o quanto cada fator explica da variabilidade dos dados.

A fluência do laser por não ter efeito significativo no modelo avaliado, foi fixada no nível

mais baixo,  $350,5 \text{ J cm}^{-2}$ . A janela de integração também não teve efeito significativo, mas esse fator foi fixado em seu maior valor,  $20 \mu\text{s}$ , porque ele tem efeito linear significativo no modelo de regressão de outros elementos, e nesses casos o aumento desse fator, aumenta a relação S/R.

O tempo de atraso do espectrômetro e o número de pulsos tiveram efeito significativo linear no modelo de regressão e avaliando o sinal dos coeficientes do modelo, foi verificado que o tempo de atraso do espectrômetro teve coeficiente com sinal negativo, ou seja, com a diminuição do valor desse parâmetro, há um aumento na relação S/N (resposta), então, esse parâmetro foi fixado no menor valor avaliado,  $200 \mu\text{s}$ . Enquanto o número de pulso teve coeficiente positivo e foi fixado em 10 pulsos. Os efeitos quadráticos e as interações entre os fatores não foram significativos no modelo.

Com os parâmetros otimizados, as amostras de sedimento foram analisadas. Com os espectros adquiridos foi feito um gráfico de correlação. Na Figura 2 mostra que a linha de P I 214,9 nm apresenta uma correlação de 0,75 com os valores de referência, por isso essa linha foi escolhida para a construção do modelo de calibração.

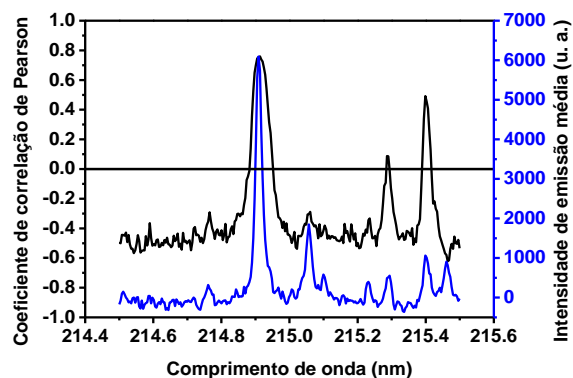


Figura 2. Gráfico de correlação para o P.

Em seguida foi construída a curva analítica de calibração do P (Figura 3a), que apresentou um coeficiente de Pearson de 0,900, sensibilidade de  $0,031 \text{ mg Kg}^{-1}$ , faixa linear de trabalho de  $801,81 - 5755,78 \text{ mg Kg}^{-1}$  de P. O LD do método foi estimado considerando o erro padrão, e foi de  $894 \text{ mg Kg}^{-1}$  (BABOS et al. 2019). O método proposto foi validado utilizando o conjunto de validação (Figura 3b).

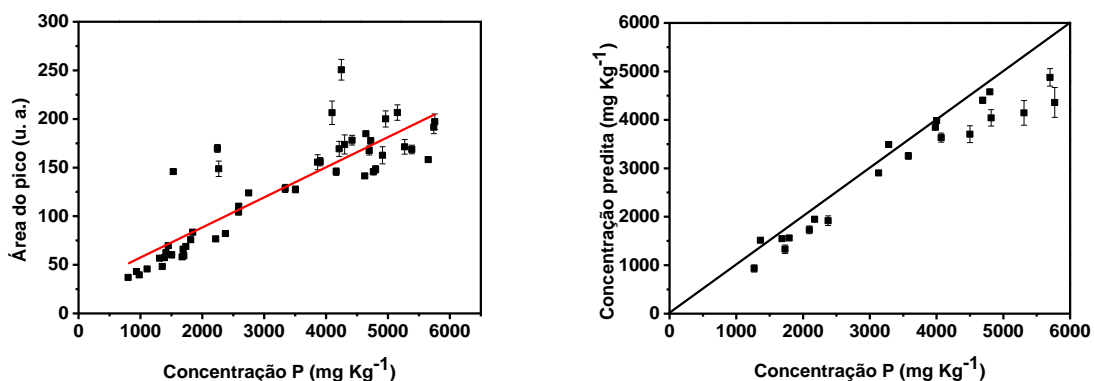


Figura 3. (a) Curva analítica para determinação de P e (b) curva de validação do P obtidas a partir de amostras de sedimento.

#### 4. Conclusões

Utilizando o planejamento experimental DCCR foi possível otimizar os parâmetros que influenciam as análises em LIBS, como fluência do laser, tempo de atraso do espectrômetro, janela de integração e número de pulsos. Com os parâmetros otimizados, foi construído e validado um modelo de calibração para determinação de P em sedimentos dos rios Tietê e Piracicaba nos seus compartimentos de entrada no reservatório de Barra Bonita-SP.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem à EMBRAPA Instrumentação e o Centro de Pesquisa em Óptica e Fotônica (CEPOF) (2013/07276-1) pelo suporte financeiro desse trabalho, o Prof. Dr. Frederico Fábio Mauad e o Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais (CRHEA-USP) por auxiliar na coleta das amostras, à EMBRAPA Pecuária Sudeste por disponibilizar o laboratório para moagem das amostras, ao Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA) por ceder o laboratório para o preparo e análise das amostras por ICP OES e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa da Carla Pereira de Moraes (1723072).

### **Referências**

- BABOS, D. V. et al. Calibration strategies to overcome matrix effects in laser-induced breakdown spectroscopy: Direct calcium and phosphorus determination in solid mineral supplements. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 155, p. 90–98, mai. 2019.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo. Parte 1 - águas doces. São Paulo: 2015.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. Relatório de Qualidade das Águas Superficiais do Estado de São Paulo. Série Relatórios. Apêndice O: Perfis Sedimentares. São Paulo: 2013.
- FERREIRA, E. C. et al. Artificial neural network for Cu quantitative determination in soil using a portable Laser Induced Breakdown Spectroscopy system. *Spectrochimica Acta - Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 63, n. 10, p. 1216–1220, out. 2008.
- R CORE TEAM. R: a language and environment for statistical computing. Viena, Austria, 2016. Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>. Acesso em 11 set. 2018.
- RADZIEMSKI, L. J.; CREMERS, D. A. *Laser-Induced Plasma and Applications*. New York: Marcel Dekker Inc., 1989. 464 p.
- STÊNIO, K.; VILLAS-BOAS, P. R.; MILORI, D. M. B. P. Desenvolvimento de software para análise de espectros LIBS. In: 6º Simpósio de Biotecnologia da UFSCar (VI SBU). Anais...São Carlos: 2018.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 3052: microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. Washington: 1996.

## COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE ANÁLISE PREDITIVA DE SÉRIES TEMPORAIS DE DADOS DE UMIDADE DO SOLO

F. A. L. Nascimento<sup>1,\*</sup>, F. L. S. Costa<sup>1</sup>, J. Sánchez<sup>1</sup>, L. A. A. Veimrober Júnior<sup>1</sup>, A. J. P. Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Rua Rui Barbosa, 710, 44380-000, Cruz das Almas, Bahia

<sup>5</sup> IFBaiano, Rua Waldemar Mascarenhas, s/n 44350-000, Governador Mangabeira, Bahia

\* Autor correspondente, e-mail: airdessonpai@hotmail.com

**Resumo:** A análise preditiva de séries temporais (APST) é usada para avaliar comportamento de um conjunto dados e previsão dos mesmos ao longo do tempo. O objetivo deste trabalho foi comparar os métodos *Holt-Winter's*, *ARIMA* e *STLF* na previsão de dados de umidade do solo obtidos via sensores de Time Domain Reflectometry -TDR como alternativa para sensores que apresentem mal funcionamento na prática do manejo de irrigação. Para avaliar o modelo de melhor ajuste foram utilizadas medidas de desempenho como MAE, RMSE. Os dados foram coletados em intervalos de 20 min dentro de um ciclo de irrigação, que configurava dois dias. Os dados representavam sete ciclos de irrigação, dos quais 60 % foram utilizados para treinamento dos modelos e 40 % na validação. Cada ciclo de irrigação continha 144 valores de umidade. O modelo de *STLF* foi o que melhor representou a série temporal de umidade do solo, pois com ele foi encontrado os menores valores de métricas de erro, dessa forma o método apresenta uma alternativa para substituição de sensores de TDR que possam apresentar falhas de funcionamento, sendo aplicável a manejo de irrigação.

**Palavras-chave:** manejo de irrigação, TDR, falha nos dados, previsão de dados.

### COMPARATIVES OF PREDICTIVE TIME SERIES ANALYSIS METHODS OF SOIL MOISTURE DATA

**Abstract:** Predictive time series analysis is used to assess the behavior of a data set and its prediction over time. The objective of this work was to compare Holt-Winter's, ARIMA and STLF methods in the prediction of soil moisture data obtained by Time Domain Reflectometry -TDR sensors as an alternative for sensors that malfunction in irrigation management practice. To evaluate the best fit model, performance measures such as MAE, RMSE were used. Data were collected at 20 min intervals within an irrigation cycle, which was two days. The data represented seven irrigation cycles, of which 60% were used for model training and 40% for validation. Each irrigation cycle contained 144 moisture values. The STLF model was the one that best represented the time series of soil moisture, because it found the lowest error metric values, so the method presents an alternative for replacement of TDR sensors that may have malfunctions, being applicable to irrigation management.

**Keywords:** irrigation management, TDR, data failure, data forecast.

#### 1. Introdução

Conhecer o comportamento de uma variável ao longo do tempo e prever dados é possível através da Análise Preditiva de Séries Temporais (APST). Essa técnica possui importante versatilidade de uso e atualmente é consolidada em diversas áreas como a de mercado financeiro (MCALINN; WEST, 2019; JI; CHANG, 2019), todavia é promissora a utilização em outras áreas como na engenharia agrícola, inclusive em manejo da irrigação, já que para esta atividade as variáveis são coletadas continuamente ao longo do tempo, configurando uma série temporal,



podendo assim serem aplicadas com a técnica da análise preditiva. Exemplo disso, são os dados de umidade do solo obtidos via sensores eletrônicos, que possibilitam um monitoramento ao longo tempo de maneira contínua e automatizada. Nesta perspectiva, Karandish & Šimůnek (2016) aplicaram técnicas de aprendizado de máquina para predição da umidade do solo na zona radicular do milho sob irrigação plena e com déficit, mostrando aplicabilidade na irrigação, evidenciando que é uma área que vem sendo explorada como uma ferramenta para suporte de decisão agrícola.

Outros estudos relacionam a previsão de dados de umidade do solo utilizando aprendizado profundo, com isso alcançando resultados satisfatórios. Chatterjee et al. (2018) afirmam que o modelo de Rede Neural Artificial Otimizada (RNAO) foi bem-sucedido e confiável na previsão da umidade para aplicações agrícolas. Kolassa et al., (2018) desenvolveram um algoritmo de rede neural para estimativa das variáveis dependente da quantidade de água no solo, utilizando dados obtidos por imagens de satélites no período de dois anos.

Usando modelos empíricos como *Holt-Winter's (HW)* (SANTOS et al., 2017); os modelos *Seasonal Trend Decomposition – LOESS (STL)* e *Error, Trend, and Seasonality (ETS)* que constituem o modelo *Short-term load forecasting (STLF)*, e o modelo *Autoregressive Integrated Moving Average (ARIMA)* (PETROPOULOS et al., 2018), podem ser explicadas as variações da umidade do solo durante um tempo, para fazer sua previsão com base em condições observadas no passado. Li et al., (2003) obtiveram resultados que mostram que o modelo sazonal ARIMA, apresentou melhor desempenho para previsões de até um ciclo anual do índice de secamento do solo (IDS) utilizando dados de sensoriamento remoto de quatro áreas na Austrália.

O objetivo deste trabalho foi comparar os métodos *Holt-Winter's*, *ARIMA* e *STLF* na predição de dados de umidade do solo obtidos via sensores de Time Domain Reflectometry -TDR como alternativa para sensores que apresentem mal funcionamento na prática do manejo de irrigação.

## 2. Materiais e Métodos

Para realizar a análise comparativa entre os modelos de APST, foi utilizada uma série temporal de 1008 dados umidade do solo obtidos de uma sonda de TDR posicionada na zona radicular da cultura do maracujazeiro sob irrigação localizada. Os dados foram coletados em intervalos de 20 min dentro de um ciclo de irrigação, que configurava dois dias. Os dados representavam sete ciclos de irrigação, dos quais 60 % foram utilizados para treinamento dos modelos e 40 % na validação. Cada ciclo de irrigação continha 144 valores de umidade.

A série de dados foi modelada utilizando-se três métodos distintos, sendo: Holt-Winters (HW); STLF e auto-regressivo com média móvel (ARIMA) utilizando-se o pacote *forecast* desenvolvido na linguagem R por Hyndman & Khandakar (2008).

A validação do modelo consistiu em comparar os valores preditos com os dados reais obtidos. Para comparação foram utilizados a raiz do erro quadrático médio (RMSE) e o erro absoluto médio (MAE). Foi adotado o teste de normalidade dos erros de Kolmogorov-Smirnov (KS) seguindo a seguinte hipótese: os erros entre valores preditos e reais seguem a distribuição normal, com a tendência de proximidade a zero (TEDESCHI, 2006).

## 3. Resultados e Discussão

Na tabela 1 são apresentados os valores de RMSE e MAE. O método de STLF e o de Holt Winters apresentaram os melhores desempenhos para predição da umidade do solo. O STLF foi o que apresentou menores valores de RMSE e MAE, podendo ser uma alternativa como ferramenta de predição da umidade em caso de falha dos sensores de TDR em campo, e com isso os valores podem ser aplicados para determinação de lâminas de irrigação e estimativa do balanço hídrico.

Chatterjee et al. (2018) comparando diferentes métodos de redes neurais obtiveram valores de RMSE variando entre 0,0168 e 0,2125  $\text{cm}^3.\text{cm}^{-3}$ . Kolassa et al. (2018) com desenvolvimento de um algoritmo de rede neural alcançaram RMSE de 0,026 $\text{cm}^3.\text{cm}^{-3}$ . Demonstrando que os resultados encontrados estão próximos dos valores obtidos na literatura.

Tabela 1 - Resultados estatístico entre os valores preditos e os dados reais.

Método	RMSE ( $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$ )	MAE
Holt Winters	0,01088	0,007722
STLF	0,00973	0,00671
ARIMA	0,01846	0,01471

Na figura 1 são apresentadas as linhas de tendência das predições sob os resultados medidos, e é possível perceber que o método ARIMA apresentam a tendência de subestimar os valores do conteúdo de água no solo, isso pode ser explicado pela característica do modelo sofrer forte influência da tendência dos dados utilizados para o treinamento, porém esse comportamento predito pelo modelo pode indicar ao irrigante que as lâminas de irrigação, se continuarem sendo aplicadas da mesma maneira pode levar a planta a sofrer com déficit hídrico. No STLF foram encontrados valores de RMSE e MAE que para umidade do solo estudados são considerados altos, isto ocorre devido a caracterização da série como unidimensional pois o método não possui a capacidade de prever a quantidade de água que foi aplicada nas irrigações, sendo esse fenômeno representado pelos ápices da série. Porém se observarmos o final de cada intervalo sazonal o que foi predito pelo método de STLF segue a mesma tendência dos dados medidos. A aproximação das estimativas dos valores reais e os preditos destacam o método como útil pois os valores no final de cada ciclo é o que se utiliza para determinação da quantidade de água a ser aplicada na irrigação.

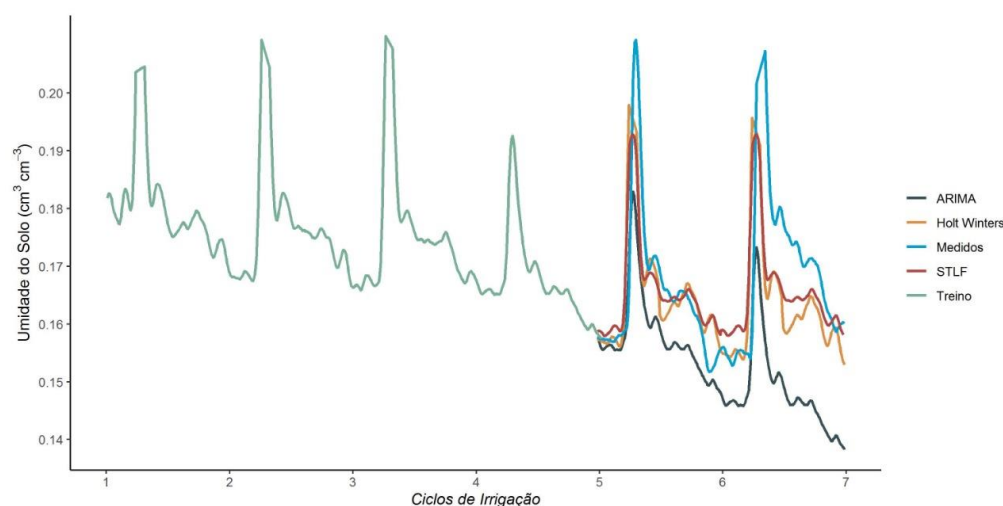


Figura 1. Gráficos das Predições dos modelos ARIMA, Holt-Winter's e STLF.

### Conclusões

O modelo de STLF foi o que melhor representou a série temporal de umidade do solo, pois com ele foi encontrado os menores valores de métricas de erro, dessa forma o método apresenta uma alternativa para substituição de sensores de TDR que possam apresentar falhas de funcionamento, sendo aplicável a manejo de irrigação.

O desempenho do método ARIMA e Holt-Winter's, são específicos a serie aqui estudada não descartando a possibilidade de uso em outros conjuntos de dados.

**Agradecimentos**

Os autores agradecem à agência de financiamento CAPES pelas bolsas de estudo e a PPGEA /UFRB pela formação.

**Referências**

- CHATTERJEE, S.; DEY, N.; SEN, S. Soil moisture quantity prediction using optimized neural supported model for sustainable agricultural applications. *Sustainable Computing: Informatics and Systems*, 2018.
- HYNDMAN, R. J.; KHANDAKAR, Y. Automatic time series forecasting: the forecast package for R. Disponível em: <http://www.jstatsoft.org/v27/i03>. Acesso em 10\08\2019.
- JI, A.; SHANG, P. Analysis of financial time series through forbidden patterns. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, v. 534, p. 1-9, 2019.
- KARANDISH, F.; ŠIMŮNEK, J. A comparison of numerical and machine-learning modeling of soil water content with limited input data. *Journal of Hydrology*, v.543, p.892-909, 2016.
- KOLASSA, J.; REICHLER, R. H.; LIU, Q.; ALEMOHAMMAD, S. H.; GENTINE, P.; AIDA, K.; ASANUMA J.; BIRCHER, S.; CALDWELL T.; COLLIANDER, A.; COSH, M. Estimating surface soil moisture from SMAP observations using a Neural Network technique. *Remote Sensing of Environment*, v. 204, p. 43-59, 2018.
- LI, Y.; CAMPBELL, E. P.; HASWELL, D.; SNEEUWJAGT, R. J.; VENABLES, W. N. Statistical forecasting of soil dryness index in the southwest of Western Australia. *Forest Ecology and Management*, v. 183, n. 1-3, p. 147-157, 2003.
- MCALINN, K.; WEST, M. Dynamic Bayesian predictive synthesis in time series forecasting. *Journal of Econometrics*, v. 210, n. 1, p. 155-169, 2019.
- PETROPOULOS, F.; HYNDMAN, R. J.; BERGMEIR, C. Exploring the sources of uncertainty: Why does bagging for time series forecasting work? *European Journal of Operational Research*, v. 268, n. 2, p. 545-554, 2018.
- SANTOS, P. V. S.; PURIFICAÇÃO, M. R. R. G.; FERNANDES, C. H. A.; SANTOS, A. A. R.; NETO, L. S. D. Application of the Holt Winters model for demand forecasting in additive seasonal series: a case study. *Journal of Engineering and Technology for Industry Applications*, v. 3, n. 10, p. 164-168, 2017.

**POSICIONAMENTO ÓTIMO DE SENSORES PARA MANEJO DA IRRIGAÇÃO  
LOCALIZADA NO MARACUJAZEIRO**

F. A.L. Nascimento<sup>1,\*</sup>, A. J. P. Silva<sup>2</sup>, F. T. F.O Freitas<sup>1</sup>, U.O. Santos<sup>1</sup>, L. A. A. Veimrober Junior<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Rua Rui Barbosa, 710, 44380-00, Cruz das Almas, Bahia

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano, Rua Waldemar Mascarenhas, 656, 44350-000, Gov. Mangabeira, Bahia

\* Autor correspondente, e-mail: airdessonpai@gmail.com

**Resumo:** Objetivou-se neste trabalho indicar um posicionamento ótimo para instalação de sensores de umidade do solo na zona radicular do maracujazeiro irrigado por gotejamento, que promova estimativas de evapotranspiração da cultura similares aos resultados oriundos de lisimetria de pesagem. A determinação do posicionamento ótimo foi realizada por meio de dados obtidos continuamente durante 21 ciclos de irrigação em 16 sondas de TDR, instaladas na zona radicular do maracujazeiro cultivado em lisímetro de pesagem. O lisímetro foi instalado no centro de um pomar de maracujazeiro conduzido em casa de vegetação nas dependências do Núcleo de Engenharia de Água e Solo (NEAS) da UFRB situada em Cruz das Almas-BA. A área ocupada pelo lisímetro foi de 1,21 m<sup>2</sup>, com profundidade de 0,90 m. As sondas foram instaladas nas distâncias de 0,10; 0,25; 0,40 e 0,55 m da planta, e nas profundidades de 0,10; 0,20; 0,30 e 0,40 m do solo. A posição ótima para instalação de sensores na zona radicular do maracujazeiro fica delimitada a proximidade com o emissor, assim nas condições descritas, o posicionamento pode ser realizado entre 0 a 0,30 m de distância da planta e 0,10 a 0,30 m de profundidade.

**Palavras-chave:** *Passiflora edulis*, manejo da irrigação, sensoriamento de água no solo.

**GREAT POSITIONING OF SENSORS FOR DRIP IRRIGATION MANAGEMENT LOCATED  
IN PASSION FRUIT**

**Abstract:** The objective of this work was to indicate an optimal positioning for installation of soil moisture sensors in the passion fruit root zone, which promotes crop evapotranspiration estimates, similar to the results obtained by weighing lysimetry. Optimal positioning was determined using data obtained continuously during 21 irrigation cycles in 16 TDR probes, installed in the root zone of passion fruit grown on a weighing lysimeter. The lysimeter was installed in the center of a passion fruit orchard conducted in a greenhouse on the premises of the UFRB Water and Soil Engineering Center (NEAS) located in Cruz das Almas-BA. The probes were installed at distances of: 0.10; 0.25; 0.40 and 0.55 m, and at the depths of 0.10; 0.20; 0.30 and 0.40 m. The area occupied by the lysimeter is 1.21 m<sup>2</sup>, with a depth of 0.90 m. The optimum position for the installation of sensors in the flowering and fruiting root zone of passion fruit grown in a yellow sandy latosol Distrocoeso is delimited the proximity to the emitter, under the described conditions the positioning can be performed at 0 to 0.30 m from the plant and from 0.10 to 0.30 m deep.

**Keywords:** *Passiflora edulis*, irrigation management, soil water sensing

**1. Introdução**

Existem diversos tipos sensores do conteúdo de água no solo ( $\theta$ ), com diversos princípios de funcionamento e custos, mas embora as opções de sensores tenham aumentado com o tempo os critérios para permitir ao usuário uma decisão sobre o posicionamento ideal dos sensores não foram aperfeiçoados.

A correta decisão sobre o posicionamento do sensor impacta diretamente na qualidade das

estimativas do balanço de água no solo e na qualidade do monitoramento da irrigação. Recentemente a determinação do posicionamento ótimo de sensores vem sendo utilizada para diminuir os erros no manejo de irrigação e do balanço de água no solo, aumentando assim a eficiência do uso da água (SILVA et al., 2015; SILVA et al., 2018; SOULIS & ELMALOGLOU., 2018; SILVA et al., 2019).

O posicionamento correto de sensores vem sendo utilizado para otimizar e alocar os recursos hídricos, possibilitando a automação da aplicação da irrigação como foi o caso do trabalho desenvolvido por (DURSUN & OZDEN, 2017), em que os autores buscaram o ideal posicionamento de sensores de umidade do solo para diminuir o consumo hídrico e energético de um sistema de irrigação automatizado para cultura do pessegueiro. Dentro dessa temática, objetivou-se com o presente trabalho indicar um posicionamento ótimo para instalação de sensores de umidade do solo na zona radicular do maracujazeiro, que promova estimativas de evapotranspiração (ET) da cultura similares aos resultados obtidos por lisímetria de pesagem.

## 2. Materiais e Métodos

A determinação do posicionamento ótimo foi realizada por meio de dados de umidade do solo ( $\theta$ ) obtidos continuamente durante 21 ciclos de irrigação em 16 sondas de Time Domain Reflectometry (TDR), que foram instaladas na zona radicular do maracujazeiro cultivado em lisímetro de pesagem em solo com textura franco arenoso, o qual apresentava 68,25 % de areia e 11,53 % de argila.

O solo utilizado é classificado como Latossolo Amarelo Distrocoeso. O lisímetro foi instalado no centro de um pomar de maracujazeiro no interior de uma casa de vegetação nas dependências do Núcleo de Engenharia de Água e Solo (NEAS) da UFRB que fica localizada no município de Cruz das Almas-BA. O lisímetro montado ocupou uma área de 1,21 m<sup>2</sup>, com a profundidade de 0,90 m.

Para irrigação foi utilizado um sistema de irrigação por gotejamento, dispoendo de dois emissores autocompensados por planta (2 l h<sup>-1</sup>/cada), perfazendo uma vazão de 4 l h<sup>-1</sup>. O espaçamento adotado foi de 2,0 m entre fileiras e 1,5 m entre plantas.

As sondas de TDR foram instaladas em dezesseis diferentes posições ( $R_iZ_i$ ), especificamente nas distâncias radiais ( $R_i$ ) de 0,10; 0,25; 0,40 e 0,55 m em relação ao caule da planta, e nas profundidades ( $Z_i$ ) de 0,10; 0,20; 0,30 e 0,40 m em relação a superfície do solo. Foi adotado intervalos de irrigação de dois dias e a irrigação aplicada foi determinada com base no volume de água necessário para retornar o conteúdo médio de água no solo a capacidade de campo (0,20 cm<sup>3</sup> cm<sup>-3</sup>).

Para determinar a variação de massa do lisímetro foi utilizado os valores obtidos após a irrigação e antes da irrigação subsequente, sendo essa variação usada para determinação da ET do maracujazeiro.

A variação de armazenamento e a lâmina de irrigação foram calculadas utilizando-se as sondas no interior do lisímetro, possibilitando estimar o balanço de água no solo na zona das raízes do maracujazeiro

Para determinar o ponto ótimo de monitoramento da umidade do solo, foi utilizado a comparação dos valores de ET calculados pelo balanço de água no solo (BAS) com dados de  $\theta$  obtidos nas diferentes posições em relação aos resultados de ET medidos no lisímetro de pesagem.

As comparações entre os valores de ET calculados por BAS e medidos no lisímetro foram realizadas como base em Tedeschi (2006), que indica o teste de nulidade conjunta proposto por (Mayer et al., 1994), com um grau de confiança de 95%, a raiz quadrada do quadrado do erro médio (RMSE) e o coeficiente de correlação ajustado ( $R^2$  ajustado).

## 3. Resultados e Discussão

Na Tabela 1 são apresentados os resultados da comparação entre valores de ET medidos no lisímetro e calculados pelo BAS para cada posicionamento dos sensores de umidade do solo na zona

radicular do maracujazeiro. Os resultados de ET calculados com valores de  $\theta$  obtidos nas posições R10Z10, R10Z20, R10Z30, R25Z10 e R25Z20 foram semelhantes aos valores de ET medidos no lisímetro. Verifica-se que são posições de monitoramento localizadas próximas ao emissor e que, dentre elas, a posição R25Z10 foi a que apresentou menor RMSE (0,33405 litros dia<sup>-1</sup>) associado a um R<sup>2</sup> de 90,302 %.

As sondas que diferiram dos resultados do lisímetro, mesmo apresentando os valores de RMSE baixo e os valores de R<sup>2</sup> ajustados considerados como bons não podem ser utilizadas pois não apresentam precisão e acurácia em suas estimativas, porque geralmente os coeficientes angulares ( $\beta_0$ ) encontrados são muito distantes de 1 indicando a não precisão ou os coeficientes lineares ( $\beta_1$ ) são distante de 0 indicando a não acurácia.

Tabela 1. Desempenho e estatística das estimativas de evapotranspiração do maracujazeiro em relação a evapotranspiração medida.

Cenário	Coefficiente $\beta_0$ e seu desvio	Coefficiente $\beta_1$ e seu desvio	R <sup>2</sup> Ajustado	RMSE (litros dia <sup>-1</sup> )	Mayer (p-valor)
<b>R10Z10</b>	0.82784 ± 0.09220	1.28730 ± 0.78103	0.80733	0.47084	0.17868
<b>R10Z20</b>	0.86483 ± 0.08691	0.90020 ± 0.86449	0.83762	0.4322	0.18867
<b>R10Z30</b>	0.87462 ± 0.09003	0.7957 ± 0.7714	0.833091	0.441085	0.20593
<b>R10Z40</b>	0.79627 ± 0.10201	1.25203 ± 0.90090	0.75929	0.526275	0.03375
<b>R25Z10</b>	0.90023 ± 0.06749	0.54100 ± 0.58174	0.90302	0.33405	0.07636
<b>R25Z20</b>	0.89262 ± 0.07311	0.6581 ± 0.62593	0.88626	0.36176	0.15281
<b>R25Z30</b>	0.82920 ± 0.06838	1.05161 ± 0.59884	0.88489	0.36394	0.01032
<b>R25Z40</b>	0.89682 ± 0.07652	0.40571 ± 0.67265	0.8777	0.37512	0.0209
<b>R40Z10</b>	0.85797 ± 0.06795	0.81135 ± 0.59364	0.89292	0.35102	0.01653
<b>R40Z20</b>	0.86309 ± 0.06624	0.76532 ± 0.57877	0.89883	0.341195	0.01473
<b>R40Z30</b>	0.83262 ± 0.05847	1.04776 ± 0.51079	0.91395	0.314665	0.00469
<b>R40Z40</b>	1.03178 ± 0.06150	-0.85020 ± 0.54349	0.93656	0.270175	0.00101
<b>R55Z10</b>	0.86543 ± 0.06579	0.73009 ± 0.57591	0.90055	0.33827	0.01205
<b>R55Z20</b>	0.85715 ± 0.06944	0.85171 ± 0.60396	0.88849	0.358205	0.02684
<b>R55Z30</b>	0.88065 ± 0.06603	0.66506 ± 0.57283	0.90299	0.33409	0.03322
<b>R55Z40</b>	0.83966 ± 0.08138	0.92188 ± 0.71489	0.84735	0.4191	0.02334

$\beta_0$ -Coeficiente angular da reta;  $\beta_1$ -Coeficiente linear da reta; RMSE- Raiz quadrada do quadrado médio do erro; R- Distância de instalação da sonda no solo; Z-Profundidade de instalação da sonda no solo.

A não significância das estimativas ET com as sondas instaladas a 0,40 e 0,55 m de distância da planta e nas camadas mais profundas do solo pode ser explicada pela distribuição de água no solo e a extração de água pela planta, pois essas sondas estão distantes do gotejador e a zona radicular se desenvolve em função da disponibilidade de água. Isso foi observado por (DURSON & OZDEN, 2017), que encontraram que os pontos de monitoramento em que se obtinham os melhores resultados da otimização de recursos delimitavam-se a zona próximo aos gotejadores no cultivo de pêssego. Silva et al 2018, mostrou para determinar o posicionamento deve-se levar em consideração a distribuição e a variabilidade da distribuição e extração de água no solo, balizando o que foi encontrado no presente estudo.

#### 4. Conclusões

A posição ótima para instalação de sensores na zona radicular do maracujazeiro, fica delimitada a proximidade ao emissor, assim nas condições descritas o posicionamento pode ser realizado entre 0 a 0,30 m de distância da planta e 0,10 a 0,30 m de profundidade.

#### Agradecimentos

Agradecemos ao órgão de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

(CAPES), pela concessão de auxílio formação. Também gostaríamos de agradecer a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo financiamento para instalação e manutenção do estudo.

### **Referências**

- DURSUN, M.; ÖZDEN, S. Optimization of soil moisture sensor placement for a PV-powered drip irrigation system using a genetic algorithm and artificial neural network. *Electrical Engineering*, v. 99, n. 1, p. 407-419, 2017.
- MAYER, D.G.; STUART, M.A.; SWAIN, A.J. Regression of real world data on model output: An appropriate overall test of validity. *Agriculture System*, v.45, p.93-104, 1994.
- SILVA, A.J.; VAN LIER, Q.J.; COELHO, E. F. Time Stable Representative Position determination as affected by the considered part of an irrigation cycle. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 157, p. 281-287, 2019.
- SILVA, A. J. P.; COELHO, E. F.; COELHO FILHO, M A. Water extraction and implications on soil moisture sensor placement in the root zone of banana. *Scientia Agricola*, v. 75, n. 2, p. 95-101, 2018.
- SILVA, A. J. P.; COELHO, E. F.; COELHO FILHO, M A. Water extraction variability in the banana root zone affects the reliability of water balance. *Scientia Agricola*, v. 72, n. 1, p. 1-10, 2015.
- SOULIS, K.X.; ELMALOGLOU, S. Optimum soil water content sensors placement for surface drip irrigation scheduling in layered soils. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 152, p. 1-8, 2018.
- TEDESCHI, L.O. Assessment of the adequacy of mathematical models. *Agricultural Systems*, v. 89, n. 2-3, p. 225-247, 2006.

**PREDIÇÃO DE ATRIBUTOS DE QUALIDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR DE FORMA  
INDIRETA UTILIZANDO ESPECTRÔMETRO PORTÁTIL**

R. A. Nuncio-Junior<sup>1,\*</sup>, L. P. Corrêdo<sup>2</sup>, P.G. Molin<sup>1</sup>, J. P. Molin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, UFSCar-LS, Rodovia Lauri Simões de Barros, km 12, 18245-970, Buri, São Paulo

<sup>2</sup> Universidade de São Paulo, USP-Esalq, Av. Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, SP

\* Autor correspondente, e-mail: rnuncio@gmail.com

**Resumo:** A espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) é uma das técnicas mais pesquisadas para determinação de parâmetros de qualidade de produtos agrícolas, como a cana-de-açúcar. Assim, o presente estudo buscou avaliar o potencial de um espectrômetro portátil de bolso, e de seu sistema interno de processamento de dados, para a predição de parâmetro relacionados à qualidade da cana-de-açúcar, como o teor de sólidos solúveis (Brix), açúcares polarizáveis (Pol) e fibra em amostras de colmo. Foram utilizadas 40 amostras de cana-de-açúcar, em triplicata, sendo utilizadas 20 amostras para a calibração do aplicativo instalado em smartphone e 20 para a etapa de validação do modelo. Após a montagem de um aplicativo interno para cada atributo analisado, a análise dos dados foi realizada por regressão entre os valores preditos pelo espectrômetro e os resultados laboratoriais convencionais para cada atributo. Os resultados obtidos mostraram que o espectrômetro de bolso calibrado com 20 amostras não apresentou capacidade preditiva dos parâmetros analisados. Conclui-se que, para as condições do presente estudo, o espectrômetro demonstrou baixo potencial preditivo para os atributos de qualidade de cana-de-açúcar analisados, provavelmente associado ao número limitado de amostras permitidas na versão de software utilizada.

**Palavras-chave:** NIRS, brix, pol, fibra, espectrometria.

**INDIRECT PREDICTION OF SUGAR CANE QUALITY ATTRIBUTES USING A PORTABLE SPECTROMETER**

**Abstract:** Near infrared spectroscopy (NIRS) is one of the most researched techniques for quality parameters prediction of agricultural products, such as sugarcane. Thus, this study aimed to evaluate the potential of a portable pocket spectrometer, with an internal data processing system, to predict sugarcane quality parameters, such as soluble solids content (Brix), polarizable sugars (Pol) and fiber in stem samples. Forty sugarcane samples were used in triplicate; 20 samples were used to calibrate the application installed on smartphone and 20 to validate the model. After development of an internal application for each attribute, data analysis was performed by regression between values predicted by the spectrometer and by conventional laboratory results for each attribute. Results showed that the calibration with 20 samples was not enough to develop a robust prediction model. It was concluded that, for the conditions of the present study, the spectrometer showed low predictive potential for the sugarcane quality attributes analyzed, probably associated with the limited number of samples allowed in the software version used.

**Keywords:** NIRS, brix, pol, fiber, spectrometry.

**1. Introdução**

Em muitas unidades industriais, a identificação do ponto de maturação ideal à colheita é realizada por meio de amostragens de campo e condução destas ao laboratório de sacarose da unidade industrial para realização de análises tradicionais segundo normas do CONSECANA (2015). A identificação do ponto de maturação também pode ser feita por meio da extração do caldo em campo e determinação da concentração de sólidos solúveis (Brix) com um refratômetro portátil.



A espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) possui vantagens em relação a métodos tradicionais de análise como possibilidade de realização de amostragem em campo de forma não destrutiva, maior velocidade de análise e menor preparo de amostras com ausência de reagentes químicos nesse processo (SANSECHAN et al. 2018). A capacidade de analisar atributos de qualidade de cana-de-açúcar no campo é de grande relevância, possibilitando a avaliação do desenvolvimento da cultura e gestão da colheita (NAWI et al., 2014).

Estudos relatam que o método da espectroscopia pode ser utilizado para prever parâmetros de qualidade com boa acurácia e que a espectroscopia baseada no escaneamento da secção transversal do colmo é um método que apresenta viabilidade para o mapeamento e na previsão da qualidade de cana-de-açúcar no campo (NAWI et al. 2014; NAWI et al. 2012).

Diversos estudos foram realizados aplicando NIRS para predição de alguns parâmetros relacionados à qualidade da cana-de-açúcar, como sólidos solúveis (Brix), o teor de açúcar medido usando a propriedade da atividade óptica que faz com que a luz polarizada seja rotacionada, ou açúcares polarizáveis (Pol) (SANSECHAN et al. 2018; NAWI et al., 2013; NAWI et al. 2012; NAWI et al. 2014; MARAPHUM et al. 2018) e Fibra (PHUPHAPHUD et al. 2019). Entretanto, nenhum com equipamentos de custo reduzido e com facilidade de operação. Sendo assim, tendo em vista o potencial da técnica de NIRS para determinação de compostos orgânicos, esse trabalho tem como objetivo investigar o potencial de um espectrômetro de bolso portátil para predição de atributos de qualidade de cana-de-açúcar.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Amostragem**

As amostras de cana-de-açúcar foram obtidas no laboratório da usina Iracema, localizada no município de Iracemápolis – SP, a partir de amostras em estágio fenológico maduro, ou em fase de colheita. A partir de uma amostra obtida por meio de uma sonda oblíqua diretamente da carga de cana colhida transportada por caminhões, foi realizada uma subamostragem composta por três segmentos de colmos para realização das análises do presente estudo. As análises convencionais para obtenção dos valores de Brix, Pol e fibra foram conduzidas em triplicata e seguiram normas estabelecidas no guia CONSECANA (2015). As subamostras coletadas, foram resfriadas e levadas para o Laboratório de Agricultura de Precisão (LAP) da Universidade de São Paulo (USP – ESALQ), onde foram analisadas em até 24 horas após a coleta na usina, minimizando o efeito de degradação do material. Foram utilizadas 40 amostras no total, sendo 20 para a formação dos bancos de dados e 20 desconhecidas para verificar a acurácia dos modelos (50:50). Os resultados laboratoriais de Brix, Pol e Fibra foram inseridos no aplicativo SCiO instalado em smartphone, realizando-se com essas amostras leituras espectrais para os resultados das análises de laboratório.

### **2.2. Coleta de dados**

O estudo foi realizado utilizando o espectrômetro portátil de bolso SCiO (Consumer Physics, Israel) para a realização das leituras espectrais das amostras (Figura 1A). Este equipamento registra os dados de reflectância na região do NIR (740 a 1070 nm) por meio da excitação da amostra com uma fonte de radiação própria e seu funcionamento está associado a um aplicativo de smartphone próprio e um banco de dados (CONSUMER PHYSICS, 2017). Para associação dos espectros às classes de interpretação de resultados de Brix, Pol e fibra, foi utilizada a função “my mini applets” do aplicativo. Esta função permite associar um grupo de espectros com padrão semelhante a uma classe de interpretação (Figura 1B), criando um banco de dados local, de modo que ao ser sensorizada uma nova amostra desconhecida, o aplicativo reconhece seu padrão espectral ao compará-lo com os padrões armazenados no banco de dados (SANCHES et al. 2018).

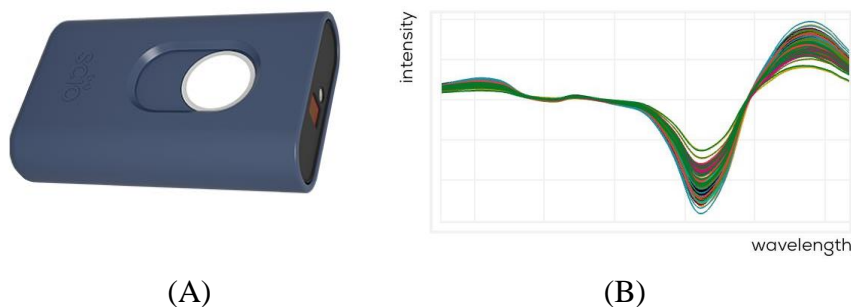


Figura 1. Espectrômetro infravermelho de bolso SCiO (A) e exibição de leituras espectrais das amostras coletadas no aplicativo do espectrômetro (B).

Os bancos de dados foram criados com as leituras espectrais associadas diretamente ao resultado de laboratório para as amostras. Foram criados seis bancos de dados para os teores de Brix, Pol e Fibra, sendo estes analisados de acordo com os métodos de escaneamento na secção de corte transversal (CSS) (Figura 2A) e escaneamento da casca do colmo (SS) (Figura 2B), onde foram sensoriados três pontos em cada subamostra, totalizando nove pontos de cada método para cada parâmetro analisado para compor um padrão no aplicativo do sensor, associado a um resultado laboratorial (PHUPHAPHUD et al. 2019; NAWI et al. 2014; NAWI et al. 2013). Após a montagem do banco de dados com as amostras de calibração, um novo conjunto composto por 20 amostras foi analisado para aferição dos aplicativos. O resultado de cada amostra (três colmos), para cada um dos atributos analisados, foi obtido pela média de três escaneamentos realizados em cada subamostra (um colmo). Na etapa de validação as subamostras foram sensoriadas três vezes, e seu resultado obtido pela média destas três leituras, ou seja, a média de cada amostra foi obtida por nove escaneamentos.

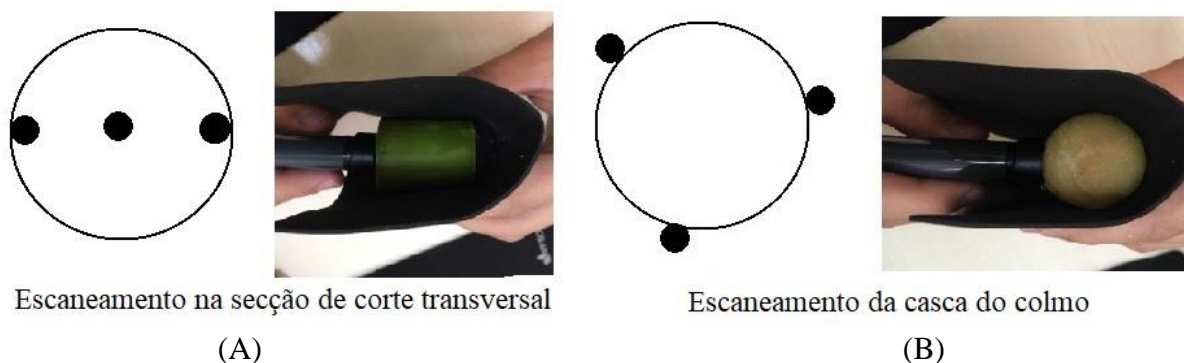


Figura 2. Posições de obtenção dos espectros por meio dos métodos de CSS (A) e SS (B).

### 3. Resultados e Discussão

Os resultados da estatística descritiva dos dados laboratoriais são exibidos na Tabela 1. Todas as amostras foram obtidas de amostras de colheita, ou seja, no mesmo estágio fenológico de corte e coletados durante um curto espaço de tempo, sem grandes variações climáticas.

Tabela 1. Estatística descritiva das amostras de cana-de-açúcar.

	Brix	Pol	Fibra
Mínimo	16,28	11,83	10,83
Máximo	20,01	18,00	15,83
Mediana	18,14	15,73	12,31
Média	18,08	15,65	12,43
Desvio padrão	0,8706	1,1901	1,0551
CV (%)	4,82	7,60	8,49

Os resultados da análise de regressão entre os resultados do espectrômetro de bolso SCiO e os dados fornecidos pela usina na etapa de validação dos dados apresentados na figura 3 demonstraram que não houve correlação entre eles, ou seja, o sensor portátil não apresentou potencial para identificação dos atributos de qualidade de cana-de-açúcar analisados.

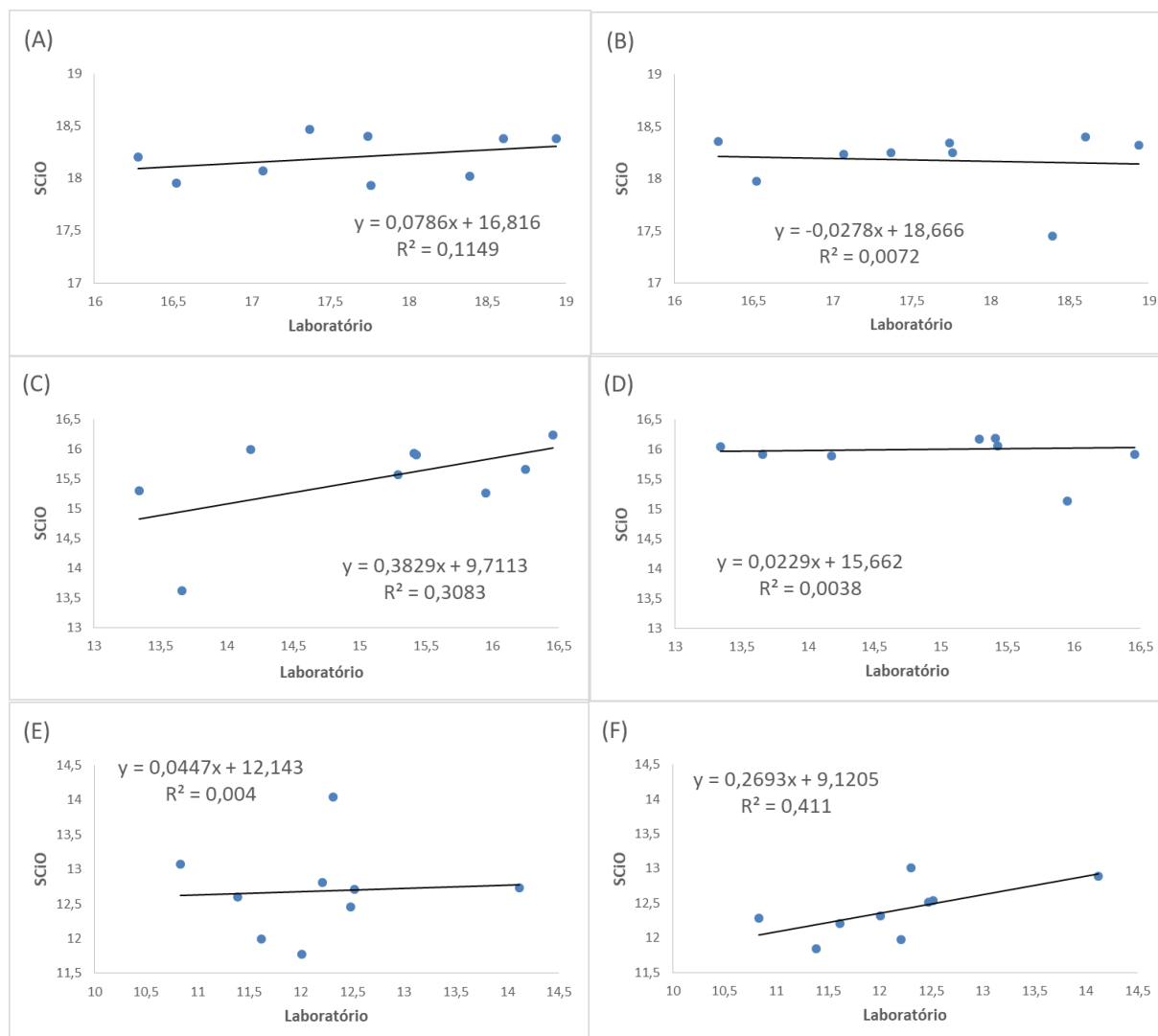


Figura 3. Valores preditos vs observados dos atributos (A) Brix CSS, (B) Brix SS, (C) Pol CSS, (D) Pol SS, (E) Fibra CSS e (F) Fibra SS.

Embora resultados promissores para a determinação de atributos de qualidade de cana-de-açúcar sejam relatados na literatura (FERRAZ; MOLIN, 2016; OCHOLA; APUNDA; YEWA, 2015), devido a restrições no software do equipamento, quanto ao número máximo de amostras e de acesso aos dados brutos, não foi possível o pré-processamento dos espectros, mas apenas a criação de padrões associando os espectros de cada amostra aos resultados de laboratório. Para todos os atributos analisados neste trabalho, a capacidade de predição das amostras através dos bancos de dados criados não permitiu que o sensor identificasse de maneira eficaz os teores de Brix, Pol e Fibra. Portanto, ressalta-se que estudos futuros devem ser realizados utilizando o software de desenvolvedor do equipamento para criação de modelos mais robustos, que podem, conseqüentemente, apresentar resultados promissores ao uso desse equipamento para avaliação do estágio de maturação das plantas de forma indireta no campo, minimizando custo e tempo com análises laboratoriais, além de fornecer uma ferramenta útil à tomada de decisão quanto ao momento certo de colheita.

#### 4. Conclusões

Utilizando o algoritmo interno do espectrômetro de bolso calibrado com um banco de dados de 20 amostras, os resultados de predição de Brix, pol e fibra não tiveram capacidade preditiva. Contudo, a fraca predição destes atributos utilizando o espectrômetro pode estar ligada a limitação presente no banco de dados utilizado para calibração, sendo possível inserir apenas 20 amostras.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Grupo São Martinho, em especial à Usina Iracema, por possibilitar a realização desse estudo.

#### Referências

- CONSECANA – Conselho Nacional de Produtores de Cana-de-Açúcar do Estado de São Paulo, CONSECANA-SP: Piracicaba- SP, 2015.
- FERRAZ, M. N.; MOLIN, J. P. NIR. NIR spectroscopy to map quality parameters of sugarcane. 13th International Conference on Precision Agriculture, St. Louis, USA, 2016.
- MARAPHUM, K.; CHUAN-UDOM, S.; SAENGPRACHATANARUG, K.; WONGPICHET, S.; POSOM, J.; PHUPHAPHUD, A.; TAIRA, E. Effect of waxy material and measurement position of a sugarcane stalk on the rapid determination of Pol value using a portable near infrared instrument. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, v. 26, p. 287 – 296, 2018.
- NAWI, N. M.; CHEN, G.; JENSEN, T.; MEHDIZADEH, S. A. Prediction and classification of sugar content of sugarcane based on skin scanning using visible and shortwave near infrared. *Biosystems Engineering*, v. 115, n. 2, p. 154–161, 2013.
- NAWI, N. M.; ROWSHON, M. K.; GUANGNAN, C.; JENSEN, T. Prediction of Sugarcane Quality Parameters Using Visible-shortwave Near Infrared Spectroradiometer. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, v. 2, p. 136-143, 2014.
- OCHOLA, P.; APUNDA, E. O.; YEWA, E. O. Evaluation of Near Infrared Spectroscopy for Sugarcane Quality Determination in Western Kenya. *Chemistry and Materials Research*, v. 7, n. 9, 2015.
- PHUPHAPHUD, A.; SAENGPRACHATANARUG, K.; POSOM, J.; MARAPHUM, K.; TAIRA, E. Prediction of the fibre content of sugarcane stalk by direct scanning using visible-shortwave near infrared spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, v. 101, p. 71–80, mar. 2019.
- SANCHES, A.; TAVARES, T. R.; EITELWEIN, M. T.; MOLIN, J. P. Espectrorradiômetro de bolso para determinação de textura e matéria orgânica em solos agrícolas. Congresso Brasileiro de Agricultura de Precisão – CONBAP, Curitiba, PR, 2018.
- SANSECHAN, P.; PANDUANGNATE, L.; SAENGPRACHATANARUG, K.; WONGPICHET, S.; TAIRA, E.; POSOM, J. A portable near infrared spectrometer as a non-destructive tool for rapid screening of solid density stalk in a sugarcane breeding program. *Sensing and Bio-Sensing Research*, v. 20, p. 34–40, set. 2018.

**INVESTIGAÇÃO METABOLÔMICA POR RMN DE POTENCIAIS AGROQUÍMICOS  
NATURAIS DE *SCHIEKIA ORINOCENSIS*, PRODUZIDOS SOB STRESS BIÓTICO E  
ABIÓTICO**F. M. M. Ocampos<sup>1,\*</sup>, L. A. Colnago<sup>1</sup><sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, R. 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP*\* *Autor correspondente, e-mail: fmmocampos@gmail.com*

**Resumo:** A produtividade de plantações de banana (*Musa* spp) pode ser afetada por patógenos como o fungo *Mycosphaerella fijiensis*, causador da Sigatoka-negra. Dentre as estratégias utilizadas no controle de infestações está o uso de agroquímicos, que podem elevar o custo da produção, induzir resistência pelos microorganismos, além de serem tóxicos para o meio ambiente. Uma alternativa para o tratamento das plantações é o uso de agroquímicos naturais, os quais podem ser produzidos pela própria planta. Cultivares resistentes de *Musa* spp., quando infectados, produzem fitoalexinas da classe das fenalenonas. Entretanto, estes compostos estão presentes em maior concentração em plantas da família Haemodoraceae do que em Musaceae. Este trabalho fundamenta-se na investigação da resposta metabólica de *Schiekia orinocensis* (Haemodoraceae) frente a agentes estressores químicos, biológicos e mecânicos, utilizando técnicas modernas de RMN combinadas com análise multivariada (SIGGEN # A299947). Esta abordagem metabólica, que tem se mostrado tendência em estudos de Ecologia Química, permite a eficiente detecção dos principais metabólitos responsáveis pela defesa da planta. A avaliação da resposta metabólica de *S. orinocensis* após estresse pode trazer respostas sobre a biossíntese e atividade biológica das fenalenonas, visando a solução de problemas envolvendo cultivares de banana suscetíveis a estas pragas.

**Palavras-chave:** *Musa* spp, *Schiekia orinocensis*, fenilfenalenonas, metabólica, RMN

***NMR-BASED METABOLOMIC INVESTIGATION OF POTENTIAL NATURAL  
AGROCHEMICALS FROM SCHIEKIA ORINOCENSIS UNDER BIOTIC AND ABIOTIC  
STRESS***

**Abstract:** Productivity of banana plantations (*Musa* spp) is affected by pathogens such as the fungus *Mycosphaerella fijiensis* that causes Black Sigatoka. Among the strategies used to control infestations is the use of agrochemicals, which may be expensive, induce resistance by microorganisms, and toxic to the environment. An alternative for the treatment of plantations is the use of natural agrochemicals, that can be produced by the plant itself. Resistant cultivars of *Musa* spp., when infected, produce phenalenone phytoalexins. These compounds are biosynthesized by Haemodoraceae plants in higher concentration than in Musaceae. This work is based on the investigation of the metabolic response of *Schiekia orinocensis* (Haemodoraceae) against chemical, biological and mechanical stressors, using modern NMR techniques combined with multivariate analysis. This metabolomic approach is trend in chemical ecology and allows the efficient detection of the main metabolites responsible for plant defense. The evaluation of the metabolic response of *S. orinocensis* against the applied stressors may provide answers on the biosynthesis and biological activity of phenalenones, as well as solve problems in banana crops susceptible to these pests.

**Keywords:** *Musa* spp, *Schiekia orinocensis*, phenalenones, metabolomic, NMR

**1. Introdução**

A banana é uma das mais importantes frutas tropicais e tem grande importância econômica, além de ser um importante alimento para a população mundial. Em 2015, dezessete milhões de toneladas de banana foram exportados, dos quais quatorze milhões foram produzidos na América

Latina e Caribe (FAO, 2017). Apesar de não estar entre os maiores exportadores, o Brasil é um grande produtor e consumidor destas frutas, tendo produzido no ano de 2015 sete milhões de toneladas. (FAO, 2017; IBGE, 2015). Os cultivares de banana comerciais mais comuns são híbridos das espécies *Musa balbisiana* e *Musa acuminata*, suscetíveis a doenças causadas por fungos como *Mycosphaerella* spp. e *Fusarium oxysporum* (Creste *et al.*, 2003; Hölscher *et al.*, 2017). Infecções causadas por fungos como estes podem levar a grandes perdas na produção de frutos (Mobambo *et al.*, 1993). A fim de evitar tais infecções em espécies suscetíveis de *Musa*, faz-se necessário o uso de pesticidas químicos para reduzir prejuízos. Os pesticidas químicos comumente utilizados na defesa contra tais patógenos (ex. propiconazol) são tóxicos para o meio ambiente e para a saúde humana e podem levar à resistência dos patógenos pelo uso continuado, o que torna importante a busca por novos agroquímicos (Friesen, 2016; Hidalgo *et al.*, 2016). Produtos naturais sempre foram inspiração e fonte de agroquímicos comerciais, e neste contexto, as fitoalexinas do tipo fenilfenalenona têm sido estudadas como ponto de partida para o desenvolvimento de novos fungicidas (Hidalgo *et al.*, 2016).

As fenalenonas, metabólitos secundários de coloração avermelhada característicos de espécies de monocotiledôneas, são encontradas nas famílias Haemodoraceae, Pontederiaceae, Strelitziaceae e Musaceae (Hidalgo *et al.*, 2015). Possuem ação fungicida (Otálvaro *et al.*, 2007; Hidalgo *et al.*, 2009) e nematicida (Hölscher *et al.*, 2014) e sua produção pode ser induzida pelo ataque de herbívoros e patógenos (Otálvaro *et al.*, 2010). Estudos relativos ao metabolismo da classe das fenalenonas têm sido realizados (Munde *et al.*, 2013), mas ainda são escassos considerando o potencial biológico destes compostos. Segundo Otálvaro *et al.* (2010), as fenalenonas são induzíveis em Musaceae, enquanto que em Haemodoraceae as induzíveis e constitutivas podem coexistir. Dessa forma, esses metabólitos estão presentes em maior concentração em Haemodoraceae que em Musaceae, um indicativo de que espécies desta família podem ser utilizadas como plantas modelo na investigação desta classe de metabólitos.

A família Haemodoraceae é composta por 101 espécies, distribuídas por quatorze gêneros encontrados na Austrália, Tailândia, África do Sul e em grande parte das Américas (Garden., 2017). A partir da década de 50, fenalenonas foram descobertas nas plantas desta família e, desde então, estas espécies se tornaram foco da atenção de diversos grupos de pesquisa ao redor do mundo (Cooke *et al.*, 1958; Hölscher e Schneider, 1999; Schneider *et al.*, 2005; Fang *et al.*, 2012; Duque *et al.*, 2013). Dos diversos gêneros que compõem a família Haemodoraceae, o gênero *Schiekia* é encontrado somente na América do Sul e é representado apenas pela espécie *Schiekia orinocensis*, não endêmica do Brasil (Maas e Maas, 2015). O perfil metabólico de *S. orinocensis*, composto por fenilfenalenonas e alguns flavonoides, foi estudado por LC-RMN (Ocampos *et al.*, 2017).

A RMN (Ressonância Magnética Nuclear) está, juntamente com a Espectrometria de Massas (EM), entre as mais poderosas ferramentas utilizadas em investigações metabolômicas. Embora menos sensível que a EM, a RMN possui diversas vantagens, como a observação simultânea de diversas classes de compostos em um único experimento, o simples preparo de amostras, o baixo tempo de aquisição, a alta reprodutibilidade, a facilidade na padronização dos procedimentos, a fácil quantificação (sem a necessidade ou utilizando apenas um composto de referência), além de permitir a elucidação estrutural de compostos e de ser um método não destrutivo, o que possibilita a utilização da amostra para posteriores investigações (Bingol *et al.*, 2015; Kuhlisch e Pohnert, 2015).

Uma das principais funções dos metabólitos secundários é atuar como agentes de defesa das plantas. Entre as estratégias utilizadas na literatura para identificar compostos de defesa é a aplicação de elicitores, substâncias exógenas capazes de induzir a produção de metabólitos secundários. Hormônios do estresse, como o jasmonato, induzem genes que codificam para enzimas envolvidas na biossíntese. O jasmonato é um elicitador envolvido no desenvolvimento e na defesa da planta e é liberado em ocasiões de estresse causado pela ação de herbívoros (Radhika *et al.*, 2010). A coronatina é uma fitotoxina que também atua como elicitadora, estimulando a defesa da planta contra agentes agressores.

Assim, a proposta do uso da abordagem metabolômica por RMN, a fim de comparar a

resposta da planta *S. orinocensis* submetida a diferentes tipos de estresse pode auxiliar no entendimento da função ecológica das fenilfenalenonas, buscando *insights* sobre potenciais novos agroquímicos de origem natural, com foco na melhoria das culturas da banana.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Obtenção das amostras

As sementes de *Schiekia orinocensis* foram coletadas em São Felix do Tocantins, Brasil (coordenadas geográficas: 10° 08' 39.96" S 46° 30' 59.05" O, a 522 m de altitude). A espécie vegetal foi identificada pelo biólogo taxonomista Guilherme M. Antar e o um exemplar foi depositado no Herbário SPF da Universidade de São Paulo (USP). A sementes estão sendo germinadas e cultivadas em laboratório, sob condições controladas de temperatura, umidade e ciclo de luz. Após as plantas atingirem a idade de plântulas, elas são submetidas, em triplicata, ao estresse causado por agentes químicos (pulverização das folhas com o hormônio jasmonato e fitotoxina coronatina), mecânico (simples rompimento mecânico das folhas) e biológico (infecção microbiológica pelo fungo *M. fijiensis*). Após o tratamento das folhas pelos agentes causadores de estresse, a resposta metabólica é avaliada em função dos diferentes tempos de coleta (1h, 6h, 12h e 24h). Em seguida, as folhas tratadas e não tratadas (controle) são armazenadas a -80°C, com o objetivo de paralisar o metabolismo celular até o momento das análises de RMN. Para a obtenção dos extratos, é realizada a pulverização com N<sub>2</sub> líquido, liofilização e, em seguida, 50 mg de material vegetal são submetidos à extração diretamente com solventes deuterados. Os extratos são preparados em tubos de microcentrifuga, com 1,5 mL de uma solução 1:1 (v/v) de metanol deuterado e tampão fosfato em água deuterada com adição de referência interna (TSP-*d*<sub>4</sub>), em ultrassom, durante 20 minutos e, então, centrifugados a 13000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante (600µL) é transferido a tubos de RMN de 5 mm. Os controles passam pelo mesmo processo, porém não recebem tratamento causador de estresse. As espécies às quais este resumo se refere estão cadastradas no SISGEN sob o número A299947.

### 2.2. Análises de RMN

As análises de RMN são realizadas sobre os microextratos para o estudo metabolômico das plantas injuriadas e não injuriadas. Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H são obtidos com número de *scans* suficiente para uma boa relação sinal/ruído, que permita identificar metabólitos em baixa concentração. Para a análise multivariada, os espectros de RMN de <sup>1</sup>H são adquiridos com janela espectral de 20 ppm, a fim de evitar distorções da linha de base próximas à região de sinais. Os espectros são referenciados em relação ao TMS-*d*<sub>4</sub>, em 0,00 ppm. A sequência de pulsos a ser utilizada para a aquisição de espectros de RMN de <sup>1</sup>H deve suprimir o sinal da água (ex. *noesygppr1d*). A identificação dos metabólitos presentes é realizada por comparação com dados encontrados na literatura e em bancos de dados de metabólitos secundários específicos, sempre com o auxílio de experimentos bidimensionais de correlação homo e heteronuclear.

### 2.3. Análise estatística

Para a realização da análise estatística, os espectros de RMN de <sup>1</sup>H das amostras obtidas, após correção de fase e de linha de base, são submetidos a transformações e pré-tratamentos, com o auxílio do software da Amix. Desta forma os espectros são inicialmente divididos em pequenos intervalos (buckets) de 0,04 ppm. A região do espectro correspondente à região de saturação do sinal da água e outras possíveis regiões indesejáveis são excluídas das análises multivariadas. Em seguida, são realizados diferentes pré-tratamentos estatísticos, visando enfatizar os compostos em baixa concentração, entre outras possibilidades. Os dados são submetidos à análise estatística pelo método de Análises dos Componentes Principais (PCA), bem como pelo método de Análise discriminatória por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) para identificação de metabólitos em função dos tratamentos aplicados.

### 3. Resultados e Discussão

Este trabalho visa ampliar o conhecimento acerca do metabolismo de defesa da espécie *S. orinocensis*, por meio da indução da produção de agentes de defesa (fitoalexinas) causada por elicitores, bem como de estresse mecânico e biológico.

A exposição da planta a diferentes agentes causadores de estresse ocasionará o aumento e/ou supressão de metabólitos da planta, em relação à composição química original (Figura 1). Espera-se que ocorra aumento nos níveis basais de algumas fenalenonas. O estudo trará a maior compreensão sobre a resposta metabólica da planta frente aos diferentes agentes causadores de estresse. Assim, os dados obtidos podem permitir um maior entendimento sobre a função ecológica desta classe de substâncias, uma vez que, no âmbito da ecologia química, existem poucos estudos em relação à atividade *in vivo* das fenalenonas.

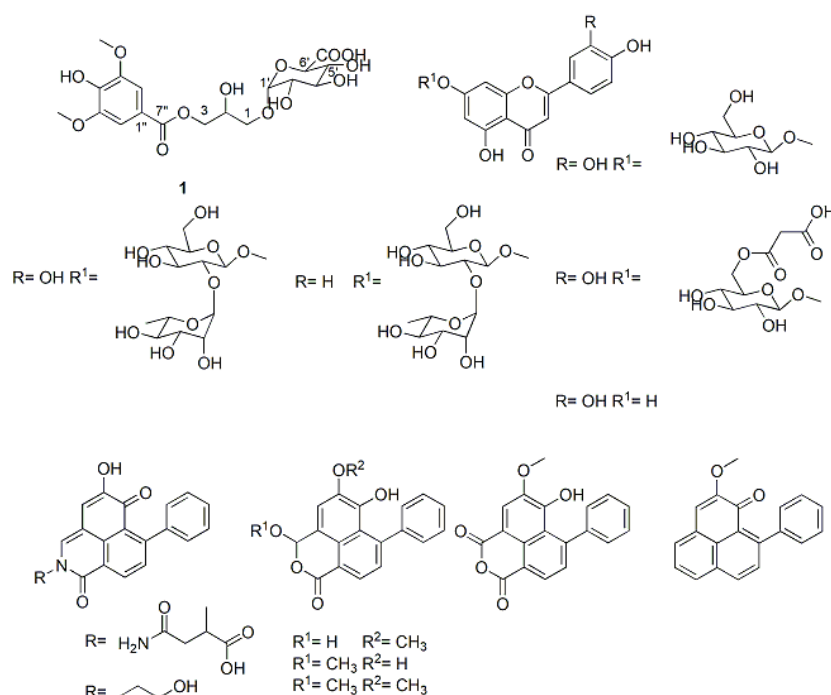


Figura 1. Metabólitos secundários encontrados em *S. orinocensis*.

### 4. Conclusões

As fenilfenalenonas cuja concentração após o tratamento realizado for aumentada serão potenciais agroquímicos de origem natural e uma possibilidade para o tratamento de cultivares de banana infectados por patógenos como *Mycosphaerella fijiensis* e *Fusarium oxysporum*.

### Agradecimentos

FAPESP (2018/00504-2), CAPES, CNPq e Finep.

### Referências

- BINGOL, K. et al. Metabolomics Beyond Spectroscopic Databases: A Combined MS/NMR Strategy for the Rapid Identification of New Metabolites in Complex Mixtures. *Analytical Chemistry*, v. 87, n. 7, p. 3864-3870. 2015.
- COOKE, R.; JOHNSON, B.; SEGAL, W. Colouring Matters of Australian plants. VI. Haemocorin: The structure of the Aglycone. *Australian Journal of Chemistry*, v. 11, n. 2, p. 230-235. 1958.
- CRESTE, S. et al. Genetic characterization of banana cultivars (*Musa* spp.) from Brazil using microsatellite markers. *Euphytica*, v. 132, n. 3, p. 259-268. 2003.
- DUQUE, L. et al. Radical Scavenging Capacity of 2,4-Dihydroxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one: A Functional Group Exclusion Approach. *Organic Letters*, v. 15, n. 14, p. 3542-3545. 2013.



- FANG, J.; KAI, M.; SCHNEIDER, B. Phytochemical profile of aerial parts and roots of *Wachendorfia thyrsoiflora* L. studied by LC-DAD-SPE-NMR. *Phytochemistry*, v. 81, n. 0, p. 144-152, 9. 2012.
- FRIESEN, T. L. Combating the Sigatoka Disease Complex on Banana. *PLoS Genetics*, San Francisco, CA USA, v. 12, n. 8. 2016.
- GARDEN., M. B. *Haemodoraceae*. *Haemodoraceae*. 2017.
- HIDALGO, W. et al. 4-Phenylphenalenones as a template for new photodynamic compounds against *Mycosphaerella fijiensis*. *Pest Management Science*, v. 72, n. 4, p. 796-800. 2016.
- HIDALGO, W. et al. Structure–Activity Relationship in the Interaction of Substituted Perinaphthenones with *Mycosphaerella fijiensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n. 16, p. 7417-7421. 2009.
- HIDALGO, W.; KAI, M.; SCHNEIDER, B. 4-Methoxycinnamic acid – An unusual phenylpropanoid involved in phenylphenalenone biosynthesis in *Anigozanthos preissii*. *Phytochemistry Letters*, v. 13, n. 0, p. 68-73, 9. 2015.
- HÖLSCHER, D. et al. Phenalenone-type phytoalexins mediate resistance of banana plants (*Musa* spp.) to the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 111, n. 1, p. 105-110. 2014.
- HÖLSCHER, D.; SCHNEIDER, B. HPLC-NMR analysis of phenylphenalenones and a stilbene from *Anigozanthos flavidus*1. *Phytochemistry*, v. 50, n. 1, p. 155-161. 1999.
- HÖLSCHER, D. et al. Local phytochemical response of *Musa acuminata* × *balbisiana* Colla cv. ‘Bluggoe’ (ABB) to colonization by *Sternorrhyncha*. *Phytochemistry*, v. 133, p. 26-32, 1. 2017.
- KUHLISCH, C.; POHNERT, G. Metabolomics in chemical ecology. *Natural Product Reports*, v. 32, n. 7, p. 937-955. 2015.
- MAAS, P.; MAAS, H. Maas, P., Maas, H. 2015. *Haemodoraceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. 2015.
- MOBAMBO, K. N. et al. Yield loss in plantain from black sigatoka leaf spot and field performance of resistant hybrids. *Field Crops Research*, v. 35, n. 1, p. 35-42. 1993
- MUNDE, T. et al. Biosynthesis of tetraoxygenated phenylphenalenones in *Wachendorfia thyrsoiflora*. *Phytochemistry*, v. 91, n. 0, p. 165-176, 7. 2013.
- OCAMPOS, F. M. M. et al. Phytochemical profile of *Schiekia orinocensis* (*Haemodoraceae*). *Phytochemistry Letters*, v. 21, p. 139-145, 9. 2017.
- OTÁLVARO, F. et al. O-Methylation of phenylphenalenone phytoalexins in *Musa acuminata* and *Wachendorfia thyrsoiflora*. *Phytochemistry*, v. 71, n. 2–3, p. 206-213. 2010.
- OTÁLVARO, F. et al. Phenalenone-Type Compounds from *Musa acuminata* var. “Yangambi km 5” (AAA) and Their Activity against *Mycosphaerella fijiensis*. *Journal of Natural Products*, v. 70, n. 5, p. 887-890. 2007.
- RADHIKA, V. et al. Towards elucidating the differential regulation of floral and extrafloral nectar secretion. *Plant Signaling & Behavior*, v. 5, n. 7, p. 924-926, 2010/07/01 2010.
- SCHNEIDER, B. et al. HPLC–NMR for tissue-specific analysis of phenylphenalenone-related compounds in *Xiphidium caeruleum* (*Haemodoraceae*). *Magnetic Resonance in Chemistry*, v. 43, n. 9, p. 724-728. 2005.

**ABORDAGEM MULTIFRACTAL EM 3D PARA A CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA POROSO DE UM SOLO SUBMETIDO A DIFERENTES MANEJOS E CICLOS DE UMEDECIMENTO E SECAMENTO**

J. A. T. Oliveira<sup>1</sup>, L. F. Pires<sup>1</sup>, F. A. M. Cássaro<sup>1</sup> e A. N. D. Posadas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG, Avenida Carlos Cavalcanti, 4748, 84030-900, Ponta Grossa, PR

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-790, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: jatoliveira@uepg.br

**Resumo:** Os solos agrícolas funcionam como um sistema complexo que retém e transmite água, ar, nutriente e calor às sementes e plantas. Dessa forma, é necessário um ambiente físico favorável à germinação e ao crescimento radicular, para maximizar a produção das culturas. A estrutura do solo é constantemente modificada por diferentes práticas de manejos, ações antrópicas, ações pluviométricas e também quando sujeita a ciclos de umedecimento e secamento. A análise multifractal tem mostrado ser uma ferramenta poderosa nas quantificações dessas possíveis modificações nas estruturas dos solos. Neste trabalho utilizou-se a análise multifractal e cálculo da entropia de Shannon em 3 dimensões para a caracterização de um Latossolo Vermelho Distrófico submetido aos plantios convencional (PC) e direto (PD), ao longo de ciclos de umedecimento e secamento (U-S). Ambas as técnicas foram capazes de detectar variações na estrutura do solo. Os espectros multifractais mostraram que o PC sofreu maiores modificações em sua estrutura porosa quando comparado ao PD, após a aplicação dos ciclos. Além disso, houve diferenças da entropia de Shannon entre os dois sistemas de plantio, sendo a do PC ligeiramente maior que a obtida para o PD.

**Palavras-chave:** Análise Multifractal, Espectro Multifractal e Entropia, Ciclos de U-S.

**3D MULTIFRACTAL APPROACH FOR CHARACTERIZATION OF THE POROUS SYSTEM OF A SOIL SUBMITTED TO DIFFERENT MANAGEMENTS AND WETTING AND DRYING CYCLES**

**Abstract:** Agricultural soils behave like a complex system that retains and transmit water, air, nutrient, and heat to seeds and plants. Therefore, a favorable physical environment for germination and root growth is needed to maximize crop yield. The soil structure is constantly modified by different management practices, anthropic and rainfall actions and when submitted to wetting and drying cycles. Multifractal analysis has been shown to be a powerful tool in quantifying these possible changes in soil structures. In this work, the multifractal analysis and Shannon entropy in 3 dimensions to characterize a Dystrophic Red Latosol submitted to conventional (TC) and no-tillage (NT) managements, both submitted to wetting and drying cycles (W-D). Both techniques were able to detect variations in soil structure. The multifractal spectra showed that the CT experimented larger modifications in its structure when compared to the NT after the application of the cycles. Moreover, there was modifications in the Shannon entropy between the managements, being this parameter a little bit larger for CT as compared to NT.

**Keywords:** Multifractal Analysis, Multifractal Spectrum and Entropy, W-D Cycles.

**1. Introdução**

O solo mesmo em condições naturais, como por exemplo, em áreas sob floresta apresenta grande complexidade no seu sistema poroso. Solos agriculturáveis, por estarem sujeitos as ações antrópicas e naturais, tendem a modificar, muitas vezes de forma expressiva, essa complexidade.

Dessa maneira, sistemas complexos e tratamentos estatísticos são utilizados para

mensurações e compreensão da estrutura do solo. De acordo com Posadas et al. (2003), a análise multifractal por meio de imagens microtomográficas torna possível a quantificação da heterogeneidade/complexidade de um sistema poroso, tal como o solo.

A análise multifractal é realizada em termos de espectros multifractais e entropia, as quais podem ser calculadas utilizando-se imagens tridimensionais (3D). O método para a determinação do espectro multifractal consiste em se relacionar o espectro de singularidade,  $f(\alpha)$ , com o expoente de Lipschitz-Holder,  $\alpha$ . Estes descrevem fisicamente a entropia generalizada ( $f(\alpha)$ ) e a energia interna do sistema ( $\alpha$ ). A entropia nesse caso é conhecida com entropia de Shannon (CHHABRA et al., 1989; CHHABRA e JENSEN, 1989; POSADAS et al., 2003).

As expressões para o cálculo do espectro multifractal e da entropia de Shannon são apresentadas a seguir:

$$f(q) = \lim_{L \rightarrow 0} \frac{\sum_i \mu_i(q,L) \log[\mu_i(q,L)]}{\log L} \quad (1)$$

$$\alpha(q) = \lim_{L \rightarrow 0} \frac{\sum_i \mu_i(q,L) \log[P_i(L)]}{\log L} \quad (2)$$

$$S = -\sum_i P_i \log P_i \quad (3)$$

sendo  $\mu_i$  a medida normalizada,  $q$  o momento da distribuição,  $L$  o tamanho da caixa e  $P_i$  as probabilidades dos poros na caixa de tamanho  $L$ .

Parâmetros como grau de multifractalidade ( $\Delta$ ) e de assimetria ( $A$ ) são ainda calculados e utilizados para uma melhor análise dos espectros multifractais 3D (SZCZEPANIAK e MACEK, 2008).

$$\Delta = \alpha_{\text{máximo}} - \alpha_{\text{mínimo}} \quad (4)$$

$$\Delta = \frac{\alpha_0 - \alpha_{\text{mínimo}}}{\alpha_{\text{máximo}} - \alpha_0} \quad (5)$$

O foco desse trabalho foi caracterizar e quantificar, por meio dos espectros multifractais e entropia de informação de imagens tridimensionais, o efeito de ciclos de umedecimento e secamento (U-S) e de diferentes manejos no sistema poroso do solo. Para isto foram utilizados dois sistemas de manejo, plantio convencional (PC) e plantio direto (PD).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Área experimental e ciclos de umedecimento e secamento

As amostras analisadas são de um Latossolo Vermelho Distrófico (LVd) coletadas na camada superficial (0-10 cm) no IAPAR/PR, unidade experimental de Ponta Grossa. As áreas experimentais de coleta das amostras foram submetidas a dois sistemas diferentes de manejo (PC e PD).

Após a coleta, as amostras foram conduzidas ao laboratório para serem saturadas (umedecimento) pelo processo de ascensão capilar por 48 h. Após a saturação, as amostras foram submetidas a uma tensão hidráulica de 6 kPa, em uma mesa de tensão (Eijkelkamp), até que o equilíbrio termodinâmico fosse atingido (secamento). Uma vez atingido o equilíbrio, as amostras foram submetidas a uma nova saturação e recolocadas na mesa de tensão novamente a 6 kPa. Este procedimento foi repetido por 12 vezes configurando 12 ciclos de U-S.

### 2.2. Imagens microtomográficas e software para análise dos dados

As imagens das amostras foram obtidas utilizando-se um tomógrafo GE v|tome|x com um tamanho de *voxel* 35  $\mu\text{m}$ . Para a reconstrução 3D foram utilizadas 860 imagens por amostra em triplicata (R1, R2 e R3). O volume analisado para cada amostra foi de aproximadamente 30.1<sup>3</sup> mm<sup>3</sup>.

Para a obtenção e análise dos espectros multifractais e entropia de Shannon utilizou-se o software NASS (*Non-linear Analysis Scaling System - AgriEntech Ltda/Rutgers*), o qual é baseado no método canônico introduzido por Chhabra et al. (1989), Posadas et al. (2005) e Chung et al. (2008).

### 3. Resultados e Discussão

As Figuras 1 e 2 apresentam os espectros multifractais e entropias para os diferentes manejos (PC e PD) submetidos a 0 (sem aplicação) e 12 ciclos de U-S.

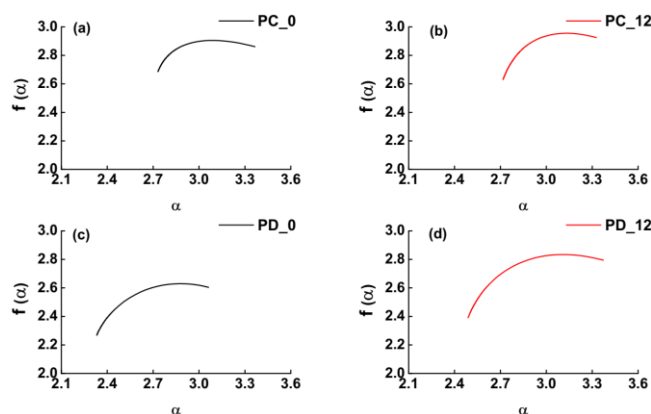


Figura 1. Espectro multifractal do CT e NT para 0 e 12 ciclos de U-S de uma triplicata.

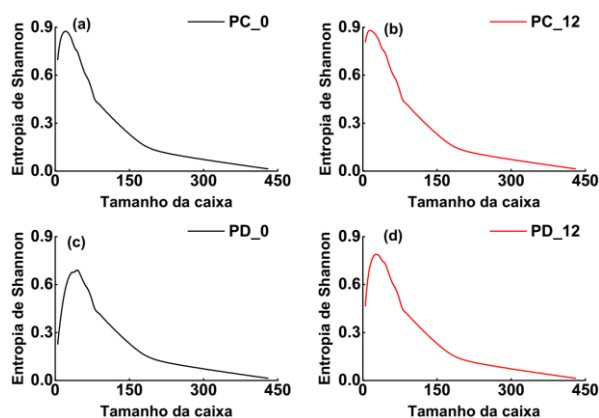


Figura 2. Entropia de Shannon para CT e NT em 0 e 12 ciclos de U-S de uma triplicata.

Nota-se que 12 ciclos de U-S provocaram no PC (Figuras 1a e b) desestruturação do ambiente poroso destas amostras. No caso do PD (Figuras 1c e d), esses ciclos induziram maior homogeneização dos poros no seu interior. Torre et al. (2018) observaram, em um solo sob PC, diferentes espectros multifractais, indicando uma maior heterogeneidade do ambiente poroso.

A entropia de Shannon (Figura 2) corroboram os espectros multifractais. O PC apresenta um pequeno aumento no valor da entropia (Figuras 2a e b) após a aplicação dos ciclos U-S, refletindo o aumento da complexidade do meio. Por outro lado, o PD apresenta um decréscimo na entropia de Shannon, sugerindo que 12 ciclos de U-S diminuíram a diversidade dos poros presentes nas amostras (MARTÍN e REY, 2000).

Analisando a Tabela 1, nota-se que o grau de multifractalidade, após a aplicação dos ciclos de U-S, diminui para o PC e aumenta para o PD, e, portanto, nesse caso indica que o último possui forte grau de multifractalidade. O oposto ocorre para o grau de assimetria. Neste caso, os ciclos causaram aumento e redução deste parâmetro para o PC e PD, indicando maior assimetria do espectro do primeiro. Assim, os parâmetros multifractais considerados representam bons indicadores do manejo adotado do sistema solo analisado. As imagens 3D apresentadas na Figura 3 mostram os efeitos dos manejos e dos ciclos de U-S no sistema poroso do solo.

Tabela 1. Parâmetros via espectro multifractal 3D.

Manejos/Ciclos	Grau de Multifractalidade ( $\Delta$ )	Grau de Assimetria (A)
PC_0	0.63	1.31
PC_12	0.61	2.14
PD_0	0.73	3.01
PD_12	0.88	2.38

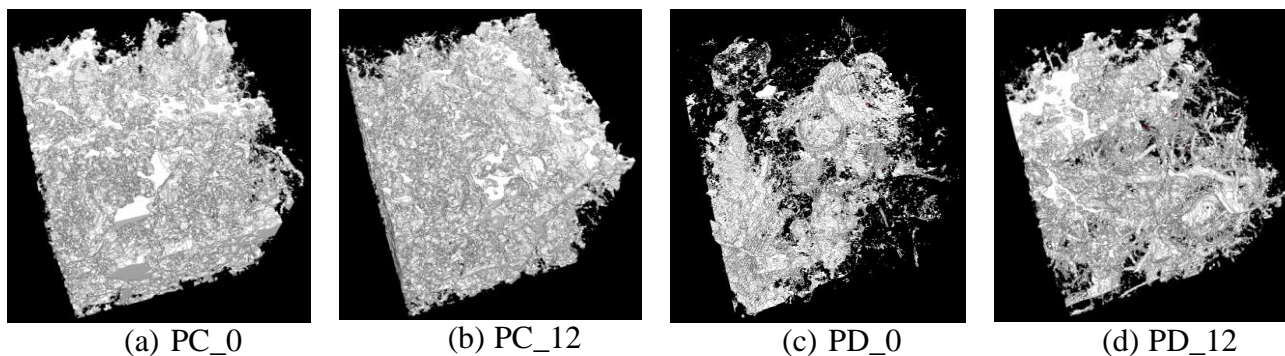


Figura 3. Imagens 3D do sistema poroso das amostras analisadas antes (0) e após (12) aplicação de ciclos U-S para os diferentes sistemas de manejos (PC e PD).

#### 4. Conclusões

A análise dos espectros multifractais e entropias mostraram que eles podem ser bons indicadores dos efeitos dos manejos e dos ciclos de U-S no sistema poroso do solo. Constatou-se que o PC comparado com o PD foi o manejo que mais sofreu alteração na sua estrutura após a aplicação dos ciclos de U-S.

#### Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências/Física (UEPG), à CAPES/Fundação Araucária pela concessão de bolsa de estudo de doutorado e ao CNPq pela concessão de bolsa de produtividade em pesquisa para LFP. À FAPESP processo nº 2018/16226-1.

#### Referências

- CHUN, H. C.; GIMÉNEZ, D; YOON, S. W. Morphology, lacunarity and entropy of intra-aggregate pores: Aggregate size and soil management effects. *Geoderma*, v. 146, n. 1-2, p. 83-93, 2008.
- CHHABRA, A. B.; MENEVEAU, C.; JENSEN, R. V.; SREENIVASAN, K. R. Direct determination of the  $f(\alpha)$  singularity spectrum and its application to fully developed turbulence. *Physical Review A*, v. 40, n. 9, p. 5284–5294, 1989.
- CHHABRA, A.; JENSEN, R. V. Direct determination of the singularity spectrum. *Physical Review Letters*, v. 62, n. 12, p. 1327–1330, 1989.
- MARTÍN, M. A.; REY, J. M. On the role of Shannon's entropy as a measure of heterogeneity. *Geoderma*, v. 98, n. 1-2, p. 1-3, 2000.
- POSADAS, A. N. D. et al. Multifractal Characterization of Soil Pore Systems. *Soil Science Society of America Journal*, v. 67, n. 5, p. 1361, 2003.
- POSADAS, A. N. D.; QUIROZ, R.; ZOROGASTUA, P. E.; LEÓN-VELARDE, C. Multifractal characterization of the spatial distribution of ulexite in a Bolivian salt flat. *International Journal of Remote Sensing*, v. 26, n. 3, p. 615-627, 2005.
- SZCZEPANIAK, A.; MACEK, W. M. Asymmetric multifractal model for solar wind intermittent turbulence. *Nonlinear Processes in Geophysics*, v. 15, n. 4, p. 615-620, 2008.
- TORRE, I. G.; LOSADA, J. C.; HECK, R. J.; TARQUIS, A. M. Multifractal analysis of 3D images of tillage soil. *Geoderma*, v. 311, p. 167-174, 2018.

**IDENTIFICAÇÃO DE PLANTA COM POTENCIAL PARA ESTUDO MEDICINAL:  
PLATYCODON GRANDIFLORUM (JACQ.) A. DC., FLOR BALÃO**N.W.V. Pereira<sup>1,\*</sup>, S.Crestana<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo – Campus I São Carlos, Avenida Trabalhador São Carlense, 400, CEP 13566-590, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação de São Carlos, Rua 15 de Novembro, 1452, CEP 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: [nadia.pereira@usp.br](mailto:nadia.pereira@usp.br)

**Resumo:** O uso de plantas para fins terapêuticos e medicinais é crescente. A Medicina Tradicional Chinesa (MTC) é precursora no uso de fitoterápicos e no Brasil, o uso de plantas medicinais advém do conhecimento empírico e da rica diversidade vegetal, étnica e cultural da população. Porém, apenas 8% das espécies vegetais foram estudadas em busca de compostos bioativos. Este trabalho, que está em andamento, teve como objetivo identificar uma espécie de planta cultivada no Brasil, equivalente ou igual a uma espécie de planta utilizada em preparações de fórmulas de medicamento da MTC, que ainda não tenha sido estudada na academia brasileira. Fez-se o levantamento, nas bases de dados *Web of Science e Scopus*, de 28 espécies que já são utilizadas na MTC, com o intuito de verificar a existência de espécies no Brasil equivalente as espécies chinesas. Foram encontradas 11 espécies que não apresentaram pesquisas no país e *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. foi a espécie selecionada para a identificação e caracterização de princípios ativos. É possível encontrar espécies de plantas no Brasil, equivalente às espécies utilizadas na preparação de extratos da MTC, contudo, necessitam de estudos para comprovar a existência e equivalência dos componentes químicos para ser utilizada como fitoterápico.

**Palavras-chave:** medicina tradicional chinesa, fitoterápico, compostos químicos, flor balão

**PLANT IDENTIFICATION WITH POTENTIAL FOR MEDICAL STUDY: PLATYCODON  
GRANDIFLORUM (JACQ.) A. DC., BALLOON FLOWER**

**Abstract:** The use of plants for therapeutic and medicinal purposes is increasing. Traditional Chinese Medicine (TCM) is a precursor in the use of herbal medicines and in Brazil, the use of medicinal plants comes from empirical knowledge and the rich plant, ethnic and cultural diversity of the population. However, only 8% of plant species were studied in search of bioactive compounds. This work, which is in progress, aimed to identify a plant species cultivated in Brazil, equivalent or equal to a plant species used in preparations of TCM drug formulation, which has not yet been studied in the Brazilian academy. A survey of 28 species already used in TCM was conducted in the Web of Science and Scopus databases in order to verify the existence of species in Brazil equivalent to Chinese species. We found 11 species that did not present research in the country and *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. was the species selected for identification and characterization of active ingredients. It is possible to find plant species in Brazil, equivalent to the species used in the preparation of TCM extracts, however, they need studies to prove the existence and equivalence of the chemical components to be used as phytotherapeutic.

**Keywords:** traditional chinese medicine, herbal medicine, chemical compounds, balloon flower

**1. Introdução**

A busca por melhor qualidade de vida, remédios com baixos índices de efeitos colaterais e as dificuldades econômicas e sociais da população, são fatores que vem contribuindo para o aumento do consumo de produtos naturais sustentáveis. Pacientes e médicos em todo o mundo vem usando

fitoterápicos como um suplemento ou substituto para medicamentos receitados (ZHENG et al., 2017).

A Medicina Tradicional Chinesa é precursora no uso de fitoterápicos e os primeiros registros, de 3.000 a.C. (TEIXEIRA et al. 2012), são baseados principalmente na prescrição de fórmulas de extratos de plantas medicinais adquirido ao longo dos séculos (BRASIL, 2006b).

Hoje, cerca de 75% da população mundial faz uso de fitoterápicos para o tratamento de enfermidades. No Brasil, esse número chega a aproximadamente 90% (VALÉCIO, 2015b) e movimentou em 2018 um montante de R\$ 1,2 bilhões (“Fito 2019 | Guia da Farmácia”, 2019).

Em 2006, o governo brasileiro deu um passo importante na gestão pública, criando a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e posteriormente a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2006a).

O Brasil é o grande detentor da maior biodiversidade do mundo, e apenas 8% das espécies vegetais foram estudadas em busca de compostos bioativos (SIMÕES et al., 2016), o que permite um vasto campo para o desenvolvimento da indústria de plantas medicinais e fitoterápicos. Entretanto existem alguns desafios importantes a serem enfrentados, como a reformulação da Lei da Biodiversidade nº 13.123 de 2015, a realização de pesquisas relacionadas ao cultivo em grande escala e com manejo sustentável das espécies de interesse e o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas mais precisas para análise de isolamento e determinação estrutural dos princípios ativos, contribuindo, assim, para melhorar a eficiência no controle de qualidade, aprimorando testes farmacológicos já existentes e a criação de novos testes (ALVES, 2013).

Este trabalho teve como objetivo identificar uma espécie de planta cultivada no Brasil, equivalente ou igual a uma espécie de planta utilizada em preparações de fórmulas de medicamento da Medicina Tradicional Chinesa ainda sem estudos com comprovação científica no Brasil.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Seleção da espécie de estudo**

A seleção da espécie de estudo foi realizada com o auxílio de uma especialista em Medicina Tradicional Chinesa que sugeriu algumas espécies de plantas utilizadas em preparação de fórmulas para tratamento de doenças, equivalentes às ervas chinesas. Inicialmente, foi sugerido levantamento de informações, relativo a estudos publicados no Brasil, de 28 espécies, que já são utilizadas na Medicina Tradicional Chinesa, com o intuito de verificar se existe alguma espécie no país equivalente as espécies chinesas utilizadas em preparação de fórmulas para tratamento de doenças. Para verificar as equivalências das espécies sugeridas, foi utilizado o livro Manual de Fitoterapia Chinesa e Plantas Brasileiras (LEITE, 2005) e o site *The Plant List* (2013) para a verificação do nome científico das espécies.

Posteriormente, foi realizada uma busca, a partir do nome científico das espécies sugeridas, nas bases de dados *Web of Science* e *Scopus*, verificando se havia ocorrência de estudos acadêmicos baseados na caracterização de compostos bioativos e seu uso medicinal.

Na base da *Scopus* foi possível realizar uma busca mais refinada utilizando o campo “abstract”, já na base da *Web* foi utilizado o campo “todos os campos”, pois o campo “abstract” não está disponível para buscas.

Para ambas as bases, após o primeiro resultado, foram aplicados os filtros para busca por categorias e por Países/Regiões. O refinamento para a busca por categoria englobou 12 temas relacionados à pesquisa e aplicação de compostos químicos de plantas medicinais em ambas as bases. Categorias pesquisadas: *Pharmacology; Toxicology and Pharmaceutics; Medicine; Integrative Complementary Medicine; Chemistry Medicinal; Pharmacy; Medicine General Internal; Medicine Research Experimental; Multidisciplinary, Dentistry; Immunology and Microbiology*. Já o filtro para Países/Regiões foi selecionado apenas Brasil, para identificar a ocorrência algum estudo sobre a espécie neste país.

### 3. Resultados Preliminares e Discussão

Como resultado das 28 espécies pesquisadas, 11 espécies de plantas não apresentaram estudos realizados no Brasil (Tabela 1).

Tabela 1. Espécies com potencial para uso medicinal verificadas nas bases de dados *Scopus* e *Web of Science* sem estudos realizados no Brasil.

Nome Científico da espécie	Família	Nome Vulgar	Nome Chinês
<i>Taraxacum mongolicum</i> Hand.-Mazz.	Asteraceae	Dente de leão	Pu Cong Ying
<i>Panax quinquefolius</i> L.	Araliaceae	Ginseng americano Raiz do Mar Ocidental	Xi Yang Shen
<i>Panax notoginseng</i> (Burkill) F.H.Chen	Araliaceae	Falso ginseng (Raiz)	San Qi
<i>Lycium barbarum</i> var. <i>chinense</i> (Mill) Aiton	Solanaceae	Goji berrey Sinforina na China	Di Gu Pi
<i>Lycium ruthenicum</i> Murray	Solanaceae	Goji berry preto	Hei Gou Qi
<i>Lonicera japonica</i> Thunb	Caprifoliaceae	Madresilvia	Jin Yin Hua
<i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq.) A. DC.	Campanulaceae	Campanhia da china Flor balão	Jiegeng ou Lingdanghua
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.	Umbelíferaceae	Alcaçuz (Raiz)	Gan Cao
<i>Rehmannia glutinosa</i> (Gaertn.) DC.	Scrophulariaceae.	Erva amarela do imperador	Sheng Di Huang
<i>Coix lachryma-jobi</i> L.	Poaceae	Lágrima de nossa senhora	Yi Yi ren
<i>P. lactiflora</i> Pall	Paeoniaceae	Paeônia	Bai Shao

A espécie selecionada para estudos de identificação e caracterização de princípios ativos, por indicação da especialista em Medicina Tradicional Chinesa, devido a sua presença em diversas composições de extratos de medicamentos da Medicina Chinesa, foi a *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.. Popularmente conhecida como Flor Balão (Figura 1), esta planta de uso ornamental no país tem as sementes vendidas pela Empresa Sakata a produtores do interior de São Paulo e são comercializadas em floriculturas e Ceasas de São Paulo e Campinas.

Erva perene, da família campanulaceae, *Platycodon grandiflorum* é nativa do norte da Ásia mas também pode ser encontrada na China, Japão, Coreia do Norte, Coreia do Sul. Cresce até à altura de 20-120 cm. O tronco é simples, raramente ramificado e denso. Suas folhas são adaxiais verdes, ovaladas, elípticas ou lanceoladas. A cor da flor varia entre azul, branca ou púrpura, dependendo da variedade. Floresce entre julho a setembro, frutificando de agosto a outubro ZHANG et al., 2015 apud (Huang, 2008).

A raiz dessa espécie tem sido usada em alimentos na medicina oriental tradicional (*Platycodi Radix*). O relatório da Administração Coreana de Alimentos e Medicamentos (KFDA), relata que 500 toneladas da raiz de *Platycodon grandiflorum* tem sido usada por ano na medicina chinesa na China e no nordeste da Ásia, e que seu consumo vem aumentando (YOO et al., 2011).

Na Medicina Tradicional Chinesa, *Platycodon grandiflorum* vem sendo utilizada para tratamento de asma, bronquite, tuberculose pulmonar, hepatite B, controle da obesidade e





atualmente os estudos estão sendo focado nas atividades antitumorais, hepatoprotetoras, imunorregulatórias e em seus efeitos antioxidantes (ZHANG et al., 2015).



Figura 1. Flores de *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC., Flor Balão, nas cores branca e azul.

#### 4. Conclusões

É possível encontrar espécies de plantas no Brasil, equivalente ou das mesmas espécies utilizadas nas preparações de extratos da Medicina Tradicional Chinesa, contudo, necessitam de estudos para comprovar a existência e equivalência dos componentes químicos para serem utilizadas em formulações brasileiras de fitoterápicos.

Este trabalho ainda propõe, em um segundo momento, realizar estudos para a identificação e caracterização de princípios ativos utilizando as técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e Espectrometria de Massa (MS). Além, de propor um sistema de produção agroecológico para viabilizar a produção desta espécie em grande escala no Brasil.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES, agencia financiadora da bolsa de doutorado da primeira autora junto a USP, São Carlos. À Embrapa Instrumentação de São Carlos, ao Laboratório de Referência Nacional em Agricultura de Precisão (Lanapre) e ao técnico do Lanapre, Pedro Bomfim. A Dra Tazue Hara Branquinho médica do Centro de Acupuntura do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, coordenadora do curso de Fitoterapia Chinesa do Centro de Acupuntura do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina da USP.

#### Referências

- ALVES, L. F. Production of phytotherapeutics in Brazil: history, problems and perspectives. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, 16 jun. 2013.
- BRASIL. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS**. Brasília. Disponível em: <[www.saude.gov.br/dab](http://www.saude.gov.br/dab)>. Acesso em: 16 dez. 2018a.
- BRASIL. **Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Ministério da Saúde**, 5 jul. 2006b. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-ppnmpf/publicacoes>>
- Fito 2019 | Guia da Farmácia**. Disponível em: <<https://guiadafarmacia.com.br/tema/fito-2019/>>. Acesso em: 20 ago. 2019.
- LEITE, M. L. S. **Manual de Fitoterapia Chinesa e Plantas Brasileiras**. 1ª Edição ed. São Paulo: Ícone Editora Ltda, 2005.

- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. [s.l.] Artmed Editora, 2016.
- TEIXEIRA, B. P. et al. A Fitoterapia no Brasil: da Medicina Popular à regulamentação pelo Ministério da Saúde. 2012.
- VALÉCIO, M. DE. **Especial Fito**. Disponível em: <[https://issuu.com/guiadafarmacia/docs/fito\\_281\\_baixa](https://issuu.com/guiadafarmacia/docs/fito_281_baixa)>. Acesso em: 20 jul. 2018.
- YOO, D. S. et al. HPLC-ELSD analysis of 18 platycosides from balloon flower roots (*Platycodi Radix*) sourced from various regions in Korea and geographical clustering of the cultivation areas. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 645–651, 15 nov. 2011.
- ZHANG, L. et al. *Platycodon grandiflorus* – An Ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 147–161, 22 abr. 2015.
- ZHENG, P. et al. Characterization of polysaccharides extracted from *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A.DC. affecting activation of chicken peritoneal macrophages. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 96, p. 775–785, 1 mar. 2017.

**MODELO DE VISÃO COMPUTACIONAL PARA MENSURAR O FORMATO DE FRUTO  
DE MELÃO AMARELO**

L. G. Pinheiro Neto<sup>1</sup>, R. R. Calixto<sup>3</sup>, M. F. Aragão<sup>3</sup>, T. S. Cavalcante<sup>3</sup> E. de O. Silva<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Sobral, CE, Brasil, Av. Dr. Guarani, 317, 62042-030, e-mail: [luis.neto@ifce.edu.br](mailto:luis.neto@ifce.edu.br)

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Fortaleza, CE, Brasil, Av. Treze de Maio, 2081, 60040-531, e-mail: [reneripardo@gmail.com](mailto:reneripardo@gmail.com), [tarique.cavalcante@ifce.edu.br](mailto:tarique.cavalcante@ifce.edu.br)

<sup>3</sup> Universidade Federal do Ceará CCA/UFC, Campus do Pici, Fortaleza, CE, Brasil, Departamento de Engenharia Agrícola, Bloco 804, 60455-760, e-mail: [marcioaragao26@alu.ufc.br](mailto:marcioaragao26@alu.ufc.br)

<sup>4</sup> Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dr. Sara Mesquita, 2270, Fortaleza, CE, Brasil, 60511-110, e-mail: [ebenezer.silva@embrapa.br](mailto:ebenezer.silva@embrapa.br)

**Resumo:** O objetivo deste trabalho foi mensurar o formato do melão amarelo através de técnicas de visão computacional (VC). Para fazer isso, uma câmera digital foi utilizada para tirar fotos de todos os melões ( $n = 135$ ), logo após as imagens foram tratadas e processadas, que consistiu na filtragem de cores no espaço RGB, pelo método de Otsu, na detecção dos contornos do melão. A razão de forma (SR) foi estimada com base nos diâmetros do melão (L - longitudinal e T - transversal), obtidos por meio de paquímetro (real) e/ou estimado pela visão computacional (VC). Com base no conjunto de dados reais (paquímetro), os melões foram classificados por SR em quatro grupos de formato comprimido ( $RF < 0,9$ ); esférico ( $0,9 \leq RF \leq 1,1$ ); oblongo ( $1,1 < RF \leq 1,7$ ) e cilíndrico ( $RF > 1,7$ ), considerados como referência. O algoritmo baseado em VC foi capaz de classificar os mesmos melões nos mesmos grupos com porcentagem de acerto de 96%. A correlação entre o produto da multiplicação de ambos os diâmetros ( $L_{cv} * T_{cv}$ ) e da área de melão (pixel<sup>2</sup>) foi muito forte (0,9987 \*\*), e o coeficiente de calibração de 93 pixels por centímetro apresentou um bom ajuste. Com base nesses dois resultados, os diâmetros, em centímetros, foram previstos a partir das medidas de L e T, em pixel, obtidas por visão computacional.

**Palavras-chave:** Automação, Algoritmo, Cucumis melo L, Inteligência Artificial

**COMPUTER VIEW MODEL FOR MEASURING YELLOW MELON SIZE AND FORMAT**

**Abstract:** The objective of this work was to measure the shape of the yellow melon using computational vision (VC) techniques. To do this, a digital camera was used to take pictures of all melons ( $n = 135$ ). Image processing consisted of color filtering in RGB space, by the Otsu method, in detecting melon contours. The shape ratio (SR) was estimated based on the melon diameters (L - longitudinal and T - transverse), obtained by caliper (real) or computational vision (CV). Based on the actual data set (caliper), melons were classified by SR in four groups, compressed format ( $RF < 0.9$ ); spherical ( $0.9 \leq RF \leq 1.1$ ); oblong ( $1.1 < RF \leq 1.7$ ) and cylindrical ( $RF > 1.7$ ), considered as reference. The CV-based algorithm was able to classify the same melons in the same groups with a hit percentage of 96%. The correlation between the multiplication product of both diameters ( $L_{cv} * T_{cv}$ ) and melon area (pixel<sup>2</sup>) was very strong (0.9987 \*\*), and the calibration coefficient of 93 pixels per centimeter showed a good fit. Based on these two results, the diameters, in centimeters, were predicted from the L and T pixel measurements obtained by computer vision.

**Keywords:** Algorithm, Artificial Intelligence, Cucumis melo L, Precision Agriculture

**1. Introdução**

O Brasil produziu 596.430 (1,90%) e exportou 224.688 (9,90%) toneladas, gerando uma taxa de câmbio de 154.298.760 dólares (FOB). O Nordeste brasileiro concentrou 94,72% da produção e 99,97% da exportação de melão. De 2006 a 2016, o melão ficou em primeiro lugar nas exportações brasileiras de frutas frescas. Portanto, o melão é um dos principais itens das exportações brasileiras,

o que é relevante para a balança comercial do país, além de gerar renda e milhares de empregos em uma das regiões mais pobres do Brasil.

As tecnologias de pós-colheita (Crisosto et al., 2014) permitiram a distribuição intercontinental de frutas frescas para atender às demandas globais de produtos de alta qualidade (Mahajan et al., 2014). Neste contexto, as tecnologias de classificação são extremamente úteis para garantir frutos de alta uniformidade.

Muitas vezes, a classificação dos frutos ocorre manualmente, normalmente, para classificação do Melão é usado um equipamento que classifica por diâmetro. Existem diversas soluções técnicas para classificar os melões com base na sua relação de forma, como o sistema de visão computacional (VC), que tem como principais vantagens a uniformidade e a alta velocidade de classificação (Eissa e Khalik, 2012). Atualmente, equipamentos baseados em VC são capazes de ordenar 24 ou mais frutos por segundo (Subramaniam e Balasubramanian, 2015). Hoje em dia, a avaliação do tamanho (peso e forma) do fruto por VC no Nordeste do Brasil ainda está em nível de pesquisa. Existem estudos de processamento de imagem baseados em melões Cantaloupe (Rashidi et al., 2010).

Em geral, as técnicas de VC foram desenvolvidas em função das características físicas (tamanho e volume) do fruto (Schulze et al., 2015), incluindo processamento de imagens por smartphone. Outras características externas, como a cor da pele, têm sido utilizadas para prever o estágio de maturação dos frutos de citros (Cubero et al., 2014). Além disso, Liu et al. (2016) treinaram um modelo de rede neural para segmentar maçãs de amostras de cores RGB (Sistema Vermelho, Verde e Azul) e HSI (Matiz, Saturação e Intensidade).

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um modelo de abordagem baseado na visão computacional para relação de forma (SR) do melão amarelo cultivado no Nordeste do Brasil.

## 2. Materiais e Métodos

O melões foram avaliados no Laboratório de Tecidos Vegetais do IFCE Campus Sobral, CE. Para a classificação de acordo com o formato por SR os melões foram definidos como: comprimido ( $RF < 0,9$ ); esférico ( $0,9 \leq RF \leq 1,1$ ); oblongo ( $1,1 < RF \leq 1,7$ ) e cilíndrico ( $RF > 1,7$ ). Este trabalho segue este padrão de RF para a classificação dos melões (LOPES, 1982), utilizado em classificadores.

### 2.1. Descrição do modelo teórico

Foram fotografados 135 melões utilizando uma câmera digital (Nikon, D 3100, Tóquio, Japão), equipada com lente Nikkor AF-S DX) e configurada no modo automático, sistema de cores RGB, distância focal 18 mm, abertura máxima (f) 5,6 e resolução máxima de  $4608 \times 3072$  pixels, para obtenção das imagens dos frutos. A estrutura de aquisição de imagens é apresentada na figura 1.

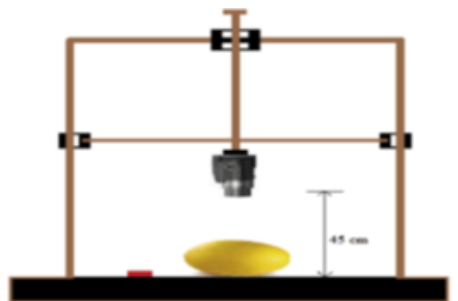


Figura. 1. Desenho esquemático da estrutura desenvolvida para fixação da câmera (Nikon d3100) usada para capturar imagens de melões amarelos.

A estrutura fixou a câmera a 45 cm de distância do fundo. Essa distância foi obtida a partir do melão mais oblongo. Após a obtenção das imagens, os diâmetros (longitudinal e transversal) de cada melão foram medidos em paquímetro. O sistema proposto, neste trabalho, foi desenvolvido em

linguagem de programação C ++ (Bell Labs, Berkeley Heights, Nova Jersey, EUA) e algumas funções da biblioteca OpenCv 3.0 (Open Source Computer Vision Library).

### 2.1.1. Pré-processamento de imagens

O pré-processamento das imagens consistiu em filtrar as cores predominantes do melão e do gabarito (conforme descrito por Tang et al., 2016), visando a detecção e segmentação dos frutos e do gabarito. A cor predominante do melão é amarela e a cor do modelo é vermelha. Como o sistema RGB (Vermelho, Verde e Azul) não possui um canal que represente diretamente a cor amarela, mas possui o canal vermelho, que representa a cor do modelo, o algoritmo foi desenvolvido para produzir uma nova imagem em escala de cinza (Imagem A ) com base na seguinte equação 1:

$$A = 2R - (G + B) \quad (1)$$

onde A é a imagem em escala de cinza gerada; R, G e B são os valores de vermelho, verde e azul no sistema RGB.

### 2.1.2. Estimativas do formato do melão amarelo

As imagens foram segmentadas usando o algoritmo Otsu threshold (Otsu, 1979). Para a razão de forma (SR), o algoritmo mediu primeiramente os diâmetros longitudinal (L) e transversal (T), usando o sistema de coordenadas polares. O primeiro passo foi definir o centróide (O) na imagem A na figura 2. A soma do número de pixels (Contpixels) em cada direção (x ou y) determinou as coordenadas da linha (ym) e da coluna (xm), e a relação entre 'ym' e 'xm' definiram as coordenadas do centroide (O), com base na seguinte equação 2:

$$A_{melão}(cm^2) = \frac{4(cm^2) * A_{melão}(pixels^2)}{A_{template}(pixels^2)} \quad (2)$$

Onde a partir das imagens A e B, respectivamente, estimar a área do template ( $A_{template}$ , no  $pixel^2$ ) e a do melão ( $A_{melão}$ , em  $pixel^2$ ), e então calcular a área do melão em centímetro quadrado ( $A_{melão}$ , em  $cm^2$ ).

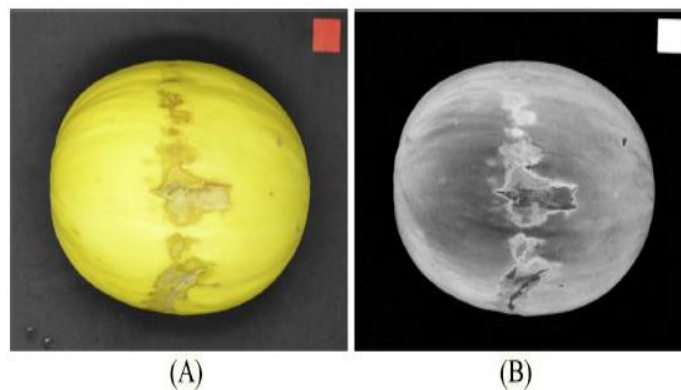


Figura. 2. Um exemplo de imagens tiradas de melão amarelo (A) e imagem em tons de cinza (Imagem A) após a filtragem como um método de pré-processamento (B).

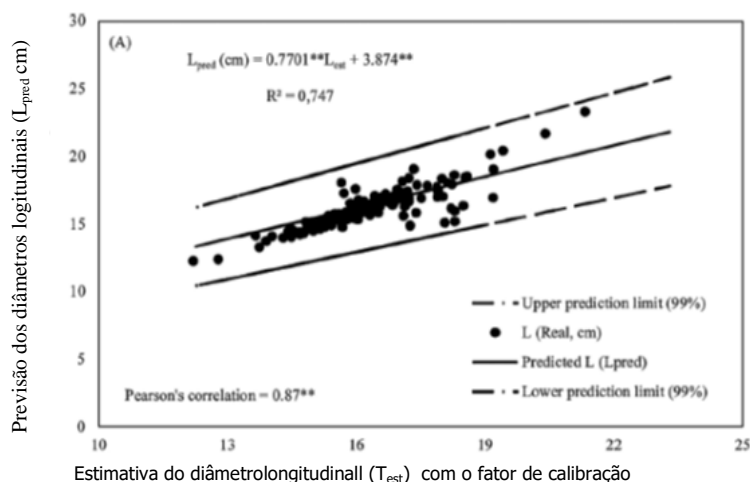
## 2.2. Delineamento experimental

Análises estatísticas e modelos de regressão foram realizados utilizando o Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, EUA) e o Action Stat Pro (Statcamp, São Carlos, São Paulo, Brasil). A intensidade da associação linear entre as variáveis dependentes e independentes foi quantificada através da análise de correlação de Pearson.

## 3. Resultados e Discussão

O resumo da correlação entre  $L_{cv} * T_{cv}$  e  $A_{melão}$  ( $pixel^2$ ) está descrito nas figuras 3 e 4, onde pode ser visto uma correlação forte (0,99987 \*\*) e o fator de calibração (93 pixels por centímetro) é verdadeiro, foi possível prever os diâmetros (Longitudinal e Transversal), em centímetros, a partir apenas das medidas de L e T por visão computacional ( $L_{cv}$  e  $T_{cv}$ ).

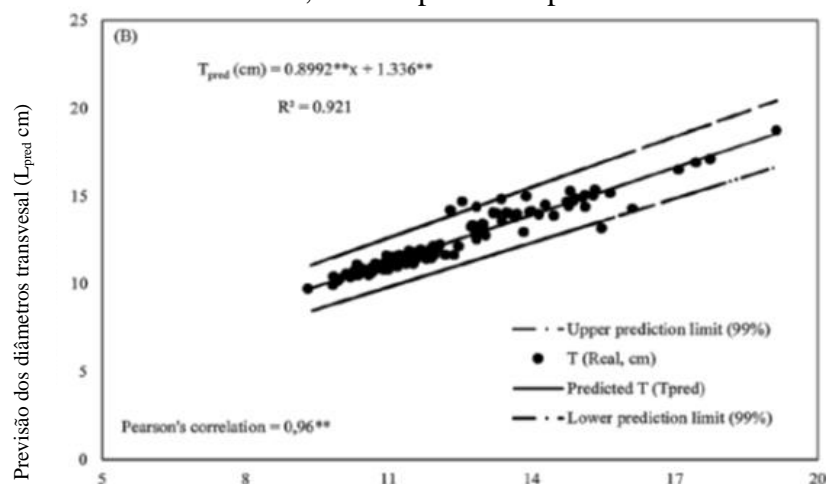
Este trabalho seguiu a tendência de desenvolver técnicas de VC com base nas características físicas dos frutos, como defeitos superficiais, tamanho e volume (Schulze et al., 2015). Sabemos que sistemas similares já foram descritos e as tecnologias de VC mais avançadas permitem fazer essas medições facilmente em tempo real a uma velocidade muito alta, usando câmeras industriais de alta precisão (Costa et al., 2011). No entanto, o sistema proposto neste trabalho é uma solução viável e de baixo custo para ser facilmente adaptada ao Nordeste brasileiro, uma vez que essas câmeras industriais são muito caras.



Estimativa do diâmetro longitudinal ( $L_{est}$ ) com o fator de calibração

Figura 3. Diâmetros longitudinal (mínimo) e longitudinal (teste) estimados, com base no fator de calibração (93 pixels por centímetro), usado para prever em centímetros, \*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F, correlação de Pearson entre  $L_{real}$  e  $L_{teste}$ .

Além disso, o sistema é útil como uma ferramenta de fenotipagem rápida em programas de melhoramento de melão. Embora esteja bem estabelecido que a qualidade interna desempenha um papel importante no melhoramento genético do melão, a aparência externa continuará a ser um importante atributo visual do consumidor, e um aspecto da aparência externa é o formato do fruto.



Estimativa do diâmetro transversal (Test) com o fator de calibração

Figura 4. Diâmetros transversal (mínimo) e transversal (teste) estimados, com base no fator de calibração (93 pixels por centímetro), usado para prever, em centímetros, \*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F, correlação de Pearson entre  $T_{real}$  e  $T_{teste}$ .

Neste sentido, a determinação do formato do fruto é essencial para desenvolver um sistema de classificação automático para os frutos de melão amarelo, para os quais duas variáveis relacionadas ao tamanho, forma e o peso, são normalmente obrigatórias. O sistema é útil também para determinar o volume da fruta. Nos programas de melhoramento, o volume é uma variável usada

para estudar a relação entre a taxa de expansão e a suscetibilidade a distúrbios fisiológicos, como o craqueamento no melão (Bairam e Green, 2018).

A obtenção dos diâmetros logitudinais e transversais do fruto, possibilitou uma classificação por formatos dos frutos, com a área em pixel<sup>2</sup> e em cm<sup>2</sup>. Como trabalho futuro, começamos a desenvolver modelos preditivos para o teor de sólidos solúveis, lembrando que essa característica (não visível a olho nu) é um importante fator de rejeição para os melões amarelos, pois os consumidores sempre duvidam da doçura dos melões. Incorporando essa tecnologia em smartphones, para que as pessoas possam acessar essas informações no mercado. Os primeiros testes com smartphones mostraram resultados promissores, afirmando a possibilidade de ter, no futuro, um aplicativo de smartphone para ajudar os consumidores a comprar melões amarelos.

#### 4. Conclusões

A visão computacional confirmou a possibilidade de prever a relação de forma dos melões de forma não destrutiva, utilizando imagens digitais e algoritmos de processamento. Os melões foram ponderados com precisão pela visão computacional, independentemente de sua área ter sido medida em pixel<sup>2</sup> ou cm<sup>2</sup>.

As técnicas de processamento utilizadas foram suficientes para separar o contorno do melão do fundo da imagem, permitindo desenvolver regressões lineares com base nos diâmetros, capazes de prever o formato do melão.

#### Agradecimentos

As Fazendas Itauera e Agrícola Famosa por ter cedidos os melões. O autor Renê Ripardo Calixto, (CPF: 049.524.893-29) agradece a bolsa de mestrado concedida pela Capes.

#### Referências

- BAIRAM, U.; GREEN, P.J. Melon crack identification and classification using k-means clustering for quality inspection. 2018 Colour and Visual Computing Symposium (CVCS). IEEE 2018, 1–5.
- COSTA, C.; ANTONUCCI, F.; PALLOTTINO, F.; AGUZZI, J.; SUN, D.W.; MENESATTI, P. Shape analysis of agricultural products: a review of recent research advances and potential application to computer vision. *Food Bioprocess Technol.* 4 (5), p. 673–692, 2011.
- CRISOSTO, C. H.; FERGUSON, L.; RODRIGUEZ-BERMEJO, J. Emerging postharvest technologies. V International Conference Postharvest Unlimited 1079, p. 47–52, 2014.
- CUBERO, S.; ALEIXOS, N.; ALBERT, F.; TORREGROSA, A.; ORTIZ, C.; GARCÍA-NAVARRETE, O.; BLASCO, J. Optimised computer vision system for automatic pre-grading of citrus fruit in the field using a mobile platform. *Precis. Agric.* v.15, p. 80–94, 2014.
- EISSA, A. H. A.; KHALIK, A. A. Understanding color image processing by machine vision for biological materials. *Struct. Funct. Eng.* p. 227–274, 2012.
- LIU, X.; ZHAO, D.; JIA, W.; RUAN, C.; TANG, S.; SHEN, T. A method of segmenting apples at night based on color and position information. *Comput. Electron. Agric.* v. 122, p.118–123, 2016.
- LOPES, J. F. *Melhoramento genético (chuchu, melancia, melão e pepino)*. In: LOPES, J. F. Cucurbitáceas: informativo agropecuário. Belo Horizonte: [s.n.], 1982. p. 61-65.
- MAHAJAN, P.V.; CALEB, O. J.; SINGH, Z.; WATKINS, C. B.; GEYER, M. Postharvest treatments of fresh produce. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Math. Phys. Eng. Sci.* 372, 20130309, 2014.
- OTSU, N., 1979. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Trans. Syst. Man Cybern.* v. 9, p. 62–63, 1979.
- RASHIDI, M.; GHOLAMI, M.; ABBASSI, S. Cantaloupe volume determination through image processing. *J. Agric. Sci. Technol.* V. 11, p. 623–631, 2010.
- SCHULZE, K.; NAGLE, M.; SPREER, W.; MAHAYOTHEE, B.; MÜLLER, J. Development and assessment of different modeling approaches for size-mass estimation of mango fruits (*Mangifera indica* L., cv. 'Nam Dokmai'). *Comput. Electron. Agric.* v. 114, p. 269–276, 2015.
- SUBRAMANIAM, K.; BALASUBRAMANIAN, S. Application of parallel computing in image processing for grading of citrus fruits. *Advanced computing and communication systems. International Conference on. IEEE.* pp. p. 1–6, 2015.

**INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE ALGINATO DE SÓDIO E DO TEMPO DE  
RETICULAÇÃO EM MICROCAPSULAS DE SEMENTE SINTÉTICA DE *MICONIA  
LIGUSTROIDES* (DC)**

A. A. Resende<sup>1,\*</sup>, M. V. dos Reis<sup>1</sup>, K. M. Tavares<sup>1</sup>, M. S. Lorenço<sup>1</sup>, J. E. de Oliveira<sup>1</sup>, J. M. Marconcini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras, Campus Universitário, s/N, 37200-000, Lavras, MG

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, nº 1.452, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: anaaresende@hotmail.com

**Resumo:** A produção de sementes sintéticas (“synseeds”) tem sido amplamente aceita na agricultura, englobando áreas como cultura de tecidos vegetais e engenharia de biomateriais. Entretanto, um dos desafios desta área é o desenvolvimento de sementes sintéticas que atendam às diversas aplicações biotecnológicas (reflorestamento por exemplo). Objetivou-se neste estudo, a avaliação das características de formulações de alginato de sódio em diferentes tempos de reticulação para a produção de sementes sintéticas de *Miconia ligustroides* (DC). Para as microcapsulas (CAPs) foi realizada uma breve caracterização a partir da análise de diâmetro médio, grau de esfericidade e termogravimetria (DTG). O diâmetro médio das microcapsulas variou de  $3,67 \pm 0,21$ mm a  $4,45 \pm 0,09$ mm. O fator de esfericidade variou de 0,89 a 0,97. Os valores obtidos nas curvas TGA/DTG indicaram influência do tempo de reticulação na etapa de desidratação das CAPs. O presente trabalho evidenciou a influência tanto da concentração de alginato, quanto do tempo de reticulação nas propriedades das CAPs e comprovou que parâmetros intermediários de ambas as variáveis podem contribuir para um melhor desenvolvimento da planta.

**Palavras-chave:** Microencapsulação, synseeds, gelificação iônica.

***INFLUENCE OF SODIUM ALGINATE CONCENTRATION AND CROSSLINKING TIME IN  
MICROCAPSULES OF MICONIA LIGUSTROID (DC) SYNTHETIC SEED***

**Abstract:** The production of synthetic seeds (“seeds”) has been widely accepted in agriculture, encompassing areas such as plant tissue culture and biomaterial engineering. However, one of the challenges in this area is the development of synthetic seeds that serve a variety of biotechnological applications (reforestation for example). The objective of this study was to evaluate the characteristics of sodium alginate formulations at different cross-linking times for the production of synthetic *Miconia ligustroides* (DC) seeds. For microcapsules (CAPs), a brief characterization was performed from the analysis of mean diameter, degree of sphericity and thermogravimetry (DTG). The average diameter of the microcapsules ranged from  $3.67 \pm 0.21$ mm to  $4.45 \pm 0.09$ mm. The sphericity factor ranged from 0.89 to 0.97. The values selected in the TGA / DTG curves indicate the influence of the crosslinking time on the dehydration phase of the PACs. The present work evidenced an influence on both alginate concentration and cross-linking time on the properties of PACs and proved that the intermediate resource parameters as variables can contribute to a better plant development.

**Keywords:** Microencapsulation, synseeds, ionic gelation

**1. Introdução**

A tecnologia das sementes sintéticas (“synseeds”), torna-se cada dia mais eficiente e facilita a conservação e a propagação em massa de espécies de plantas de elite (RAY; BHATTACHARYA, 2010). Além disso, segundo Ray e Bhattacharya (2010), o encapsulamento oferece vantagens duplas, isto é, oferecem uma conservação a curto prazo do germoplasma, além de fornecer fonte de tecido prontamente disponível para fácil propagação, onde cada “synseed” pode atuar como uma



semente sintética dando origem à plantas completas.

Um dos materiais que demonstram ter potencial para produção de “synseeds” de diversas espécies, é o alginato de sódio, que ao longo dos anos se tornou um material de grande interesse como potencial componente estrutural de filmes e de material de parede para microcápsulas devido às suas propriedades coloidais únicas. O alginato de sódio, é um polissacarídeo que contém naturalmente, grupos carboxílicos em cada constituinte residual, possuindo assim, diversas habilidades funcionais como por exemplo a capacidade de formação instantânea de hidrogéis, obtida através da forte interação entre alginato e íons de  $\text{Ca}^{2+}$  (TURBIANI; KIECKBUSCH, 2011).

O processo mais utilizado para conseguir essa formação instantânea de hidrogel de alginato de sódio, é a gelificação iônica. Método físico-químico de microencapsulação com base em interações iônicas entre substâncias de cargas opostas (BENAVIDES et al., 2016). Dentre suas diversas aplicações, este processo tem sido utilizado para o encapsulamento de explantes para produção de “synseeds” de diversas espécies, entre elas, de *Miconia ligustroides*. Esta, ganha destaque na área médica, por possuir ação analgésica, antimicrobiana e tripanocida (CUNHA et al., 2006). Além disso, outra característica importante é que desde 2001, vem sendo feita uma listagem de espécies de *Miconia* recomendadas para a recuperação de matas ciliares, conforme Resolução SMA nº 21 de 21 de Novembro de 2001 (CHAVES et al., 2013).

Contudo, o que se objetivou neste estudo foi a avaliação das características químicas e físicas de diferentes formulações de alginato de sódio e tempos de reticulação para a produção de sementes sintéticas de *Miconia*.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Produção das sementes sintéticas

Número de cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen): A920AD9.

Soluções com diferentes concentrações (2,5; 3,5 e 4,5% p/v) de alginato de sódio (agente gelificante) foram preparadas e acrescidas de meio MS (MURASNIGE; SKOOG, 1962) com exceção do componente  $\text{CaCl}_2$ . Todas as soluções foram esterilizadas em autoclave a  $121^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Seguintes nodais de  $5 \pm 1$  mm foram dispersos na matriz de alginato de sódio, coletadas com pipeta Pasteur e suavemente extrudadas uma a uma no agente reticulante, onde permaneceram por 10, 15 e 20 minutos. Após o tempo estipulado, as sementes sintéticas foram coletadas e lavadas em água destilada estéril por 1 min para remoção de vestígios de produtos químicos aderentes. Posteriormente foram inoculadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS acrescido de sacarose (3%). Os tubos foram vedados e o aparato experimental foi mantido por 50 dias em sala de cultivo à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16/8 horas dia/noite e com intensidade luminosa de  $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  fornecida por uma lâmpada L.E.D. branca (CBC).

### 2.2. Caracterização

Para o diâmetro médio das CAPs, foram medidos os diâmetros de 20 repetições por tratamento através de um paquímetro digital Caliper de escala 0 a 300 mm (Digimess, Brasil) e as médias foram calculadas. O fator de esfericidade foi calculado seguindo metodologia adaptada de Davarci et al., (2017), em que os diâmetros máximo e mínimo ( $d_{\text{max}}$  e  $d_{\text{min}}$ , respectivamente) foram medidos para pelo menos 20 repetições por tratamento e então calculado segundo a equação a seguir:

$$\Phi = d_{\text{min}}^2 / (d_{\text{min}} + d_{\text{max}}) \quad (1)$$

Para  $\phi > 0,95$ , as microcápsulas foram consideradas esféricas ou ligeiramente ovais. Para  $0,95 > \phi > 0,90$ , as contas foram consideradas ovais e forma de pêra. Valores inferiores significam deformações significativas, isto é, inaceitáveis.

A estabilidade térmica das microcápsulas (CAPs) foi estudada e para este fim, as amostras foram submetidas a análise termogravimétrica em equipamento, constituído por balança, forno, suporte de amostra, sensor de temperatura, programador de temperatura do forno (DTG-60A/60AH)

sistema registrador (TA-60WS) e controlador de fluxo de atmosfera do forno (FC.60A) (Shimadzu). A análise termogravimétrica foi conduzida em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min, à uma taxa de aquecimento de 10°C/min em um intervalo iniciado à temperatura ambiente até 800°C.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade utilizando-se os Software Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2014) e OriginPro 2018, versão 95E (OriginLab, Northampton, MA).

### 3. Resultados e Discussão

Os valores descritos na Tabela 1 para diâmetro médio das CAPs mostram que o tempo de imersão em solução reticulante não afetou significativamente o diâmetro médio das CAPs para as concentrações de 2,5 e 3,5% de alginato de sódio. Diferenças significativas foram encontradas para uma mesma concentração de alginato apenas nos tratamentos em que a concentração foi de 4,5%, sugerindo que, para esta concentração, os tempos de reticulação afetaram significativamente os valores de diâmetro médio das CAPs.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos e valores obtidos para diâmetro médio com seus respectivos desvios padrão ( $\sigma$ ) e fator de esfericidade ( $\phi$ ) das CAPs.

Tratamento	Alginato de Sódio (g.100mL de solução)	Tempo de reticulação em CaCl <sub>2</sub> 100Mm (min)	Diâmetro médio (mm) $\sigma$	$\phi$
CAP 2,5-1	2,5	10	3,67 <sup>a</sup> ± 0,21	0,89
CAP 2,5-2	2,5	15	3,77 <sup>a</sup> ± 0,21	0,89
CAP 2,5-3	2,5	20	3,78 <sup>a</sup> ± 0,22	0,92
CAP 3,5-1	3,5	10	4,04 <sup>b</sup> ± 0,13	0,92
CAP 3,5-2	3,5	15	4,05 <sup>b</sup> ± 0,06	0,97
CAP 3,5-3	3,5	20	4,08 <sup>b</sup> ± 0,09	0,96
CAP 4,5-1	4,5	10	4,08 <sup>b</sup> ± 0,13	0,94
CAP 4,5-2	4,5	15	4,26 <sup>c</sup> ± 0,10	0,97
CAP 4,5-3	4,5	20	4,45 <sup>d</sup> ± 0,09	0,97

<sup>a,b,c,d</sup> Valores com letras diferentes na mesma coluna diferem entre si significativamente ( $p < 0,05$ ), pelo teste de Tukey

De modo geral, o diâmetro médio das CAPs foram afetados majoritariamente pelas concentrações de alginato utilizadas e estas, tem uma influência estatisticamente significativa mas limitada no diâmetro da microcápsula, como relatado também em estudos anteriores de Davarci et al., (2017). Chan et al. (2011) atribuem a diminuição da viscosidade do alginato à diminuição de sua concentração na solução, desta forma, concentrações mais elevadas de alginato, geram por consequência, CAPs maiores e assim, estes resultados vão de encontro aos obtidos no presente estudo.

De acordo com os valores obtidos para o grau de esfericidade das CAPs, pode-se notar que o valor obtido para os tratamentos cuja concentração foi de 2,5% e os tempos de reticulação de 10 e 15 minutos, foi menor que o valor aceitável de 0,90, apresentado assim, deformações significativas e, portanto, inaceitáveis segundo Davarci et al. (2017). Entretanto, os demais tratamentos se mantiveram na faixa aceitável. Os resultados indicam que concentrações mais elevadas de alginato combinadas com maiores tempos de imersão em solução reticulante resultam em CAPs mais esféricas. Estes resultados mostram boa relevância com estudos anteriores (DAVARCI et al., 2017)

A Figura 1 mostra as curvas de perda de massa (Figura 1-A) e da derivada de perda de massa (Figura 1-B), típicas de misturas de alginato de sódio (CAPs) e também do alginato de sódio puro.

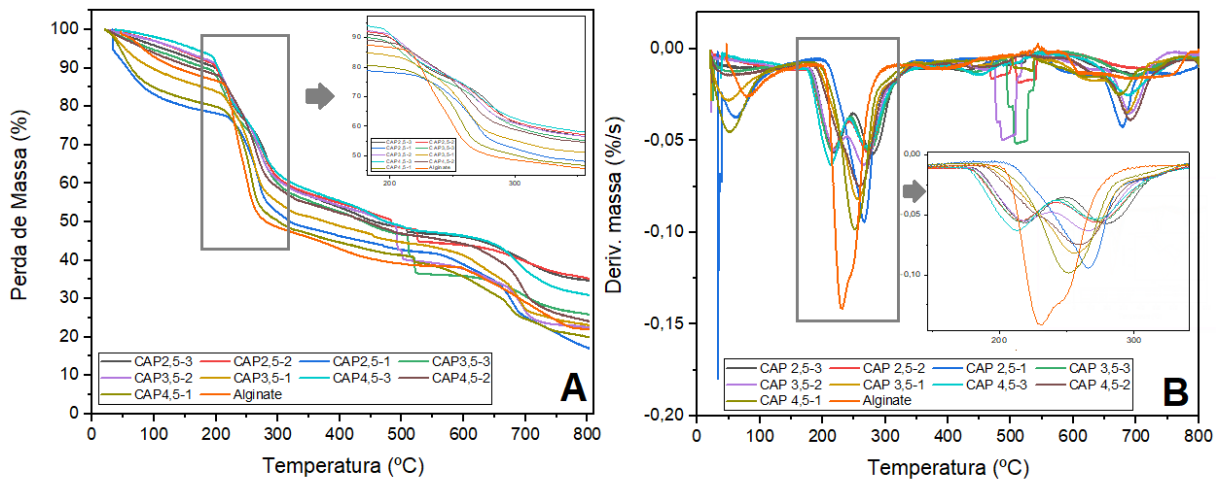


Figura 1. Curvas A) TGA; B) DTG das CAPs e do alginato de sódio puro

Observa-se principalmente uma redução na temperatura de desidratação nas CAPs em relação ao alginato puro e um padrão em relação a porcentagem de massa perdida nesta etapa. Este resultado pode ser explicado uma vez que CAPs que tiveram menor tempo para o processo de reticulação (10 minutos), apresentaram uma perda de massa maior que as que tiveram maior tempo para o processo de reticulação (15 e 20 minutos). Assim, sugere-se que o tempo de reticulação pode afetar a quantidade de água retida nas CAPs, isso porque quanto maior o tempo de reticulação, menor a quantidade de água retida nas CAPs, pois maior a densidade de reticulação entre as cadeias e consequentemente, maior quantidade de água é expulsa da cápsula durante o processo.

#### 4. Conclusões

O presente estudo evidenciou o efeito significativo tanto da concentração de alginato de sódio quanto do tempo de imersão em solução reticulante nas características das CAPs e sugere que condições intermediárias tanto de concentração de alginato quanto de tempo de reticulação sejam mais apropriados para posterior rompimento da microcápsula através do crescimento e desenvolvimento da planta em questão.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, FAPESP e CAPES pelo suporte financeiro. e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

#### Referências

- BENAVIDES, S. et al. Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. **Food Chemistry**, v. 204, p. 77–83, 2016.
- CHAN, E. S. et al. Prediction models for shape and size of Ca-alginate macrobeads produced through extrusion-dripping method. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 338, n. 1, p. 63–72, 2009.
- CHAN, E. S. et al. Effect of formulation of alginate beads on their mechanical behavior and stiffness. **Particuology**, v. 9, n. 3, p. 228–234, 2011.
- CHAN, E. S. Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 4, p. 1267–1275, 2011.
- CHAVES, I. D. S. et al. Morphological characterization of fruits, diaspores and germination of *Miconia ligustroides* (DC.) Naundim (Melastomataceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 35, n. 1, p. 93–98, 2013.
- CUNHA, W. R. et al. A study of the trypanocidal activity of triterpene acids isolated from *Miconia* species. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 6, p. 474–478, 2006.

- DAVARCI, F. et al. The influence of solution viscosities and surface tension on calcium- alginate microbead formation using dripping technique. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 119–127, 2017.
- DOHNAL, J.; ŠTĚPÁNEK, F. Inkjet fabrication and characterization of calcium alginate microcapsules. **Powder Technology**, v. 200, n. 3, p. 254–259, 2010.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures is in multiple comparisons. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109–112, 2014.
- MURASNIGE, T.; SKOOG, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tohaoco Tissue Cultures. **Physiol. Plant**, v. 15, n. Copenhagen, p. 473–479, 1962.
- RAY, A.; BHATTACHARYA, S. Storage and conversion of Eclipta alba synseeds and RAPD analysis of the converted plantlets. **Biologia Plantarum**, v. 54, n. 3, p. 547–550, 2010.
- SARAVANAN, M.; RAO, K. P. Pectin-gelatin and alginate-gelatin complex coacervation for controlled drug delivery: Influence of anionic polysaccharides and drugs being encapsulated on physicochemical properties of microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 808–816, 2010.
- TURBIANI; KIECKBUSCH. Propriedades mecânicas e de barreira de filmes de alginato de sódio reticulados com benzoato de cálcio e/ou cloreto de cálcio. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 02, p. 82–90, 2011.

**AVALIAÇÃO DE UM PIRANÔMETRO DE BAIXO CUSTO EM CONDIÇÕES DE CAMPO**

J. Sánchez-Benítez<sup>1,\*</sup>, A. M. Amaral<sup>1</sup>, T. S. S. Vale<sup>1</sup>, M. A. C. M. dos Santos<sup>1</sup>, L.M. Vellame<sup>1</sup>, I. L. N. Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Rua Rui Barbosa, 710, 44380-000, Cruz das Almas, Bahia

\* Autor correspondente, e-mail: jsanchezb2@gmail.com

**Resumo:** Este trabalho apresenta os resultados da avaliação de um sensor piranômetro de baixo custo, o qual usa o fotodiodo BPV10NF. Durante a coleta de dados foram utilizados 14 sensores de baixo custo e um sensor de referência, CS300 da Campbell Scientific®. Os dados foram coletados durante um período de 414 dias, e foram utilizados para criar um modelo de calibração, que posteriormente foi validado. Os modelos obtidos se ajustaram bem com relação aos dados do sensor padrão, o desvio médio dos dados foi inferior a  $0,1575 \text{ MJ.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$  no 95,5% das medições.

**Palavras-chave:** validação, calibração, sensor de radiação solar

**EVALUATION OF A LOW COST PYRAMETER IN FIELD CONDITIONS**

**Abstract:** This paper presents the results of the evaluation of a low cost pyranometer sensor, which uses the BPV10NF photodiode. During data collection, 14 low-cost sensors were used, besides a reference sensor, Campbell Scientific® CS300. Data were collected over a period of 414 days, and were used to create a calibration model, which was later validated. The obtained models presented a good fit with the standard sensor data; the average deviation of the data was less than  $0.1575 \text{ MJ.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$  in 95.5% of the measurements.

**Keywords:** validation, calibration, solar radiation sensor

**1. Introdução**

A radiação solar está diretamente relacionada aos fenômenos meteorológicos e pode ser atenuada pelos componentes da atmosfera. Como variável agrometeorológica, tem papel fundamental nos processos biológicos e fisiológicos na terra, o que a torna essencial para estudos que envolvem modelagem do crescimento das plantas e mudanças climáticas. No campo da engenharia agrícola, a radiação solar tem grande influência nos processos de evapotranspiração, que culmina diretamente em estudos de demanda hídrica de culturas agrícolas (SANTOS, 2015).

O Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) é responsável pela manutenção e disponibilização de dados meteorológicos, dentre eles a radiação solar. A disponibilidade de dados de radiação solar, seja em período horário ou diário, geralmente é escassa tanto do ponto de vista espacial (distribuição das estações meteorológicas) e ainda devido principalmente ao preço desses sensores, haja vista que muitos deles são importados e estão associados às unidades armazenadoras de dados dos fabricantes, o que dificulta e encarece ainda mais o produto final.

As dificuldades de aquisição e o preço são fatores que motivam desenvolvimento de dispositivos de baixo custo, quer sejam sensores ou unidades armazenadoras de dados. Tal fator tem evoluído e principalmente no campo da engenharia agrícola. O desenvolvimento de sensores requer uma rotina metodológica consistente que vai desde a construção (escolha dos componentes e padronização do sensor) até aos testes e calibração.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar um conjunto de piranômetros de baixo custo construídos no Laboratório de Instrumentação Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

## 2. Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido no Núcleo de Engenharia de Água e Solo (NEAS), da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) em Cruz das Almas-Ba, localizada nas coordenadas geográficas (Latitude: 12° 39' 11" Sul, Longitude: 39° 7' 19" Oeste).

O modelo de piranômetro aqui proposto, dispõe como componente principal um fotodiodo modelo BPV10NF da fabricante Vishay Semiconductors®. Ao todo foram construídos 14 piranômetros.

Os testes realizados entre os dias 13/04/2018 e 01/06/2019, foram feitos em campo aberto e os piranômetros foram instalados e posicionados em direção ao norte, de forma a evitar sombreamento. Os sensores foram conectados a uma unidade armazenadora de dados CR1000 Campbell Scientific®. Dois sensores foram usados como referência, CS300 da Campbell Scientific® e o LP02 da Apogee.



Figura 1. Piranômetros instalados em campo durante o período de calibração

O processamento dos dados, foi realizado em intervalo horário. Dessa forma o sinal em mV do modelo piranômetro aqui proposto foi associado aos valores de radiação solar global obtidas com os sensores usados como referência, de forma a obter a curva de calibração.

Para a análise dos resíduos fez-se o uso do indicador estatístico *RSME* (raiz quadrado do erro médio) Equação 1, conforme sugerida por (AZOUZOUTE et al., 2019) como sendo uma ferramenta de análise de erros em medições.

$$RMSE = \sqrt{\sum \frac{(y_{pred} - y_{ref})^2}{N}} \quad (1)$$

Em que,  $y_{pred}$  é o valor de radiação calculado a partir dos valores de milivolts obtidos por cada sensor,  $y_{ref}$  é o valor de radiação obtido do sensor de referência, e  $N$  é o tamanho da mostra.

## 3. Resultados e Discussão

Um total de 39.350 dados por sensor foram usados para obtenção da curva de calibração. A Figura 2 apresenta as curvas de calibração individuais para cada sensor. Observa-se que existe um ligeiro offset entre sinal em mV do conjunto de sensores e a radiação solar global medida por um dos sensores de referência aqui utilizados (CS300). Esse offset denota que cada sensor possui sua curva de calibração específica. Acima de 200  $W m^{-2}$  esse offset tende a aumentar por exemplo entre os piranômetros P4 e P9. Para uma mesma quantidade de radiação (1000  $W m^{-2}$ ) a diferença no sinal em mV entre esses dois sensores foi de aproximadamente 0,34. Alguns dos sensores desenvolvidos apresentaram resposta semelhante, tal como P14, P10, P11, P13 e P2.

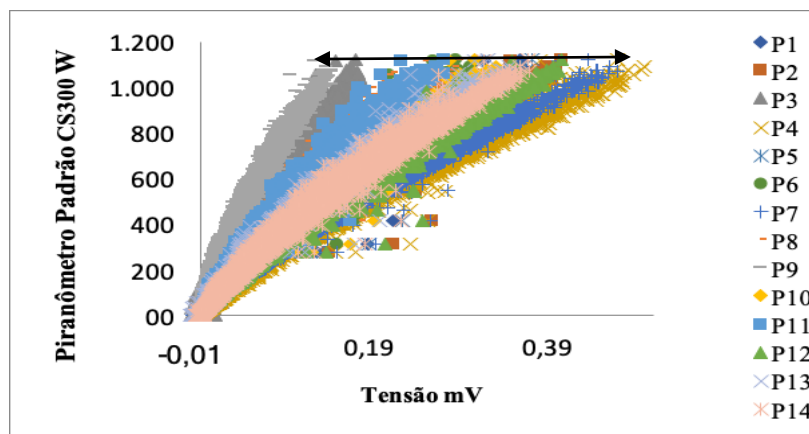


Figura 2. Gráfico da correlação dos dados dos piranômetros de baixo custo com o piranômetro padrão.

A Tabela 1 contém os coeficientes de calibração do conjunto de sensores aqui testados. O modelo polinomial de ordem 2 foi o que melhor se ajustou aos dados. A Equação 2 apresenta o modelo de calibração dos sensores.

$$Rd = A(vm)^2 + B(vm) + C \quad (2)$$

Em que,

*Rd* é o valor da radiação medida em watts por metro quadrado ( $W/m^2$ )

*vm* é o valor medido no sensor em milivolts (mV),

A, B e C são as constantes do modelo

Tabela 1. Valores dos coeficientes do modelo calculados para cada sensor

Piranômetro	A	B	C	R <sup>2</sup>
P1	-3784	4220,8	3,8458	0,99565
P2	-3142,6	3806,2	1,3113	0,99345
P3	-15686	8533,3	2,9926	0,9877
P4	-2745	3362,2	4,3481	0,98883
P5	-3713,7	4154,7	3,8695	0,99347
P6	-5952,4	5189,7	1,5348	0,99442
P7	-3335,4	3684,3	2,537	0,9864
P8	-7160,4	5622,4	2,2246	0,98694
P9	-26658	10796	1,6243	0,9883
P10	-3358,7	4224,7	1,3984	0,99432
P11	-6151,1	5529	1,5465	0,99235
P12	-3089,3	3781,6	3,6795	0,99438
P13	-4654	4541,8	6,6813	0,99314
P14	-4097,8	4292,4	1,9087	0,99406
P15	-5768,8	5070,6	0,2099	0,9848
P16	-3590,3	3946,3	2,4701	0,99368

A Figura 3 contém uma amostra dos dados coletados no período de teste e mostra que existem uma boa correlação entre a média dos 14 sensores desenvolvidos e os dois piranômetros usados como referência. Isso de certa forma reflete os altos coeficientes de correlação observados na Tabela 1. Para tanto, o modelo de piranômetro aqui proposto se aproxima mais do piranômetro de referência CS300. Houve pequenas variações entre o conjunto dos 14 piranômetros e o LP02 da Apogee, subestimado levemente o ponto máximo da medição.

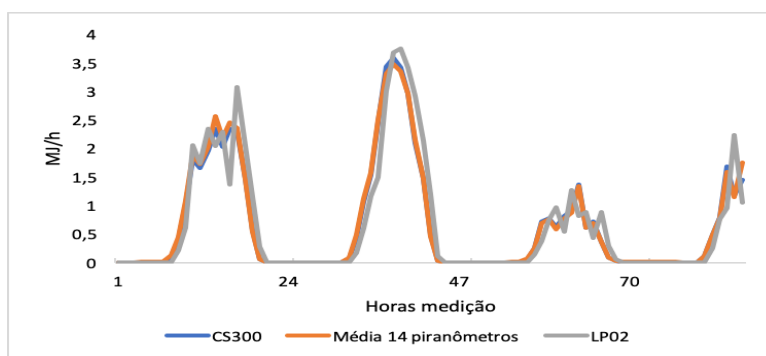


Figura 3. Exemplo de ajuste dos dados entre os piranômetros de baixo custo e dos piranômetro comerciais na escala de  $\text{MJ.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$ , após aplicada a calibração.

Espera-se um menor erro na ordem de  $0,1575 \text{ MJ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$  em 95,5% das estimativas (Figura 4). Os 14 sensores têm um *RMSE* médio de  $0,88 \text{ MJ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$  e um *RMSE* máximo de  $1,33 \text{ MJ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$  o que representa 7,1% do valor médio (Tabela 2).

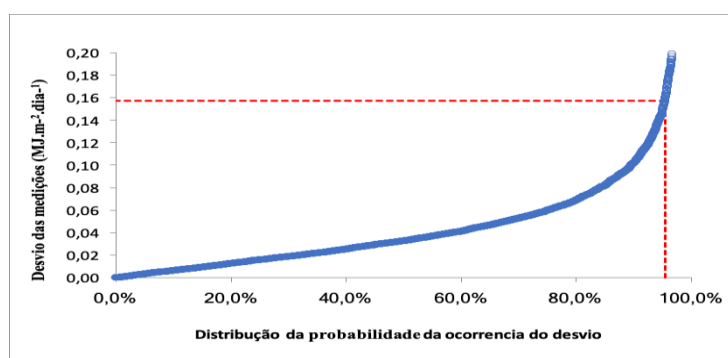


Figura 4. Curvas da probabilidade da ocorrência do desvio das medições do sensor  $\text{MJ.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$

Tabela 2. Valores dos coeficientes do *RMSE* e o  $R^2$  obtidos.

Sensor	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14
<b>RMSE</b>	0,53	0,62	0,94	1,17	0,81	0,71	1,33	1,12	0,82	0,88	0,91	0,76	0,95	0,81
<b>R<sup>2</sup></b>	0,99	0,98	0,94	0,95	0,98	0,98	0,94	0,95	0,97	0,99	0,96	0,97	0,97	0,97

#### 4. Conclusões

Todos os piranômetros de baixo custo avaliados, tem uma alta correlação com as medições feitas pelos piranômetros utilizados como referência.

Em relação aos custos de fabricação, o sensor não supera os U\$ 20,0 logo sua boa performance associada ao baixo custo, com o aprimoramento na construção tornar mais fácil e mais barato a aquisição de piranômetros.

#### Agradecimentos

Os autores apresentam agradecimento à CAPES pelas bolsas de estudo, à Programa de pós-graduação Em Engenharia Agrícola da UFRB pelo apoio e a formação.

#### Referências

- AZOUZOUTE, A. et al. Accuracy measurement of pyranometer vs reference cell for PV resource assessment. *Energy Procedia*, v. 157, n. 2018, p. 1202–1209, 2019.
- KOURO, S. Sensores De Humedad. Universidad Tecnica Federico Santa Maria, 2001.



- MARTÍNEZ, M. A.; ANDÚJAR, J. M.; ENRIQUE, J. M. A new and inexpensive pyranometer for the visible spectral range. *Sensors (Switzerland)*, v. 9, n. 6, p. 4615–4634, 2009.
- RAICHIJK, C. Control de calidad de mediciones de radiación solar. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*, v. 16, n. April, p. 17–22, 2012.
- SANTOS, N. T. Avaliação de piranômetros em condições de campo e estimativa do balanço de radiação em área de gramínea com grau de cobertura variável. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2015.

**CONVERSOR A/D HX711 E ARDUINO NA MEDIÇÃO DE TERMOPARES: APLICAÇÃO  
NO MÉTODO DA ESTIMATIVA DE FLUXO DE SEIVA POR PULSO DE CALOR**

B. D. Santos<sup>1,\*</sup>, J. Sánchez<sup>1</sup>, L. M. Vellame<sup>1</sup>, C. S. Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Rua 710, 44380-000, Cruz das Almas, Bahia,

\* Autor correspondente, e-mail: brunaduarte1797@gmail.com

**Resumo:** Com este trabalho, objetivou-se validar o módulo conversor A/D HX711 em conjunto com a placa de desenvolvimento Arduino Pro Mini para um sistema de medição de temperatura utilizando o termopar tipo T, a fim de determinar o fluxo de seiva pelo método termoeletrico de Pulso de Calor, com sensores de baixo custo, autônomos e de fácil manuseio. O experimento foi instalado nas dependências do Núcleo de Engenharia Água e Solo (NEAS) na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). A calibração do conversor foi realizada em duas etapas, a primeira em laboratório com o auxílio do coletor de dados CR800 da *Campbell Scientific*®, e a segunda foi a validação em ambiente protegido utilizando sensores instalados em plantas de limoeiro, durante quatro dias. Os resultados demonstram eficiência no sistema de medição utilizando o HX711 porque o erro médio foi de 12,55509  $\mu\text{V}$  representado em erro de estimativa da temperatura de 0,03051°C com 95% de confiabilidade.

**Palavras-chave:** HX711, Arduino Pro Mini, Fluxo de Seiva, Pulso de calor.

***HX711 A / D CONVERTER AND ARDUINO FOR MEASURING MEASURES: APPLICATION OF THE HEAT PULSE FLOW SED ESTIMATE***

**Abstract:** With this work, the aim was to validate a converter module A/D HX711 together with a Arduino Pro Mini development board for a temperature measuring system using a thermocouple type T, in order to determine the sap flow by the thermoelectrical heat pulse method, with low cost, autonomous and easy handling sensors. The experiment was installed in the Center for Soil and Water Engineering (NEAS) at the Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). The converter calibration was performed in two phases, the first in laboratory with the help of a datalogger CR800 from *Campbell Scientific*®, and the second was the validation in a greenhouse using sensors installed in lemon trees, for four days. The results demonstrated efficiency in the measuring system using the HX711, due to an standard error of 12.55509  $\mu\text{V}$  represented in the error of temperature estimation of 0.03051°C with 95% of confidence

**Keywords:** HX711, Arduino Pro Mini, sap flow, Heat Pulse.

**1. Introdução**

O conhecimento das relações do *continuum solo-planta-atmosfera* é de fundamental importância para o desenvolvimento de estratégias de manejo da irrigação. Esse conhecimento é a base para elaboração de projetos de planejamento da irrigação das culturas, com base no monitoramento da transpiração (VELLAME e SILVA, 2014).

A planta por si mesma é a melhor indicadora de seu status hídrico, pois integra automaticamente todos os fatores externos que afetam seu estado de hidratação (VENTURIN, 2016). Neste sentido, o aprimoramento e desenvolvimento de tecnologias capazes de realizar as medições do consumo de água pelas plantas está sendo amplamente aplicados na agricultura irrigada, como o método termoeletrico de Pulso de Calor (*Heat Pulse, HP*).

Método utilizado para a determinação do fluxo de seiva das plantas, caracterizado pela obtenção de fluxo reverso e baixas taxas de variação de fluxo de seiva nas plantas lenhosas. (BURGESS et al., 2001). Analisando o cenário atual, observa-se um déficit de equipamentos de

baixo custo capazes de mensurar o fluxo de seiva. Assim, para atender esta necessidade é proposto um sistema de aquisição de dados de baixo custo, baseado na plataforma Arduino que utiliza um conversor analógico digital HX711 como interface de leitura para os sensores de temperatura que compõem o método de pulso de calor.

O HX711 é um conversor analógico-digital de precisão, que através do circuito 24 bits (ADC), foi projetado para balanças e aplicações de controle industrial para interface diretamente com um sensor de ponte (AVIA, 2016). Criado pela empresa AVIA *Semiconductor*, vem sendo bastante utilizado na contemporaneidade, nas mais diversas áreas como, indústria, engenharia, ciências agrárias, entre outras, por possuir amplificador de sinal que viabiliza resultados precisos com custos baixos.

O presente trabalho tem como objetivo a validação do módulo conversor A/D HX711, para medições de temperatura com termopar tipo T, no método da estimativa do fluxo de seiva por pulso de calor.

## 2. Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências do Núcleo de Engenharia de Água e Solo (NEAS) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) em Cruz das Almas-Ba, localizada nas coordenadas geográficas (Latitude: 12° 39' 11" Sul, Longitude: 39° 7' 19" Oeste). Foram executadas duas fases, a primeira em laboratório e a segunda em casa de vegetação com sensores instalados em plantas de limoeiro.

### 2.1. Calibração do conversor A/D HX711 em laboratório

Para fazer a calibração do módulo conversor análogo/digital (A/D) HX711, foi construído um circuito usando um registrador de dados CR800 da Campbell Scientific®, dois termopares tipo T (cobre/constantan) e um módulo A/D HX711, Figura 1. Os termopares foram submetidos a diferentes temperaturas (abaixo de zero, ambiente e maior a 100 °C), com a finalidade de construir a curva de calibração dos sensores, a partir dos dados obtidos pelo conversor A/D próprio do CR800, e os dados obtidos pelo dispositivo HX711. Este último tem uma relação de fundo de sinal (FS) de 24 bits, que é uma porcentagem dos bits de entrada em relação ao valor máximo ( $2^{23}$ ) do conversor, Equação 1.

$$Fs = (sinal - 0,008180)/15,8464 \quad (1)$$

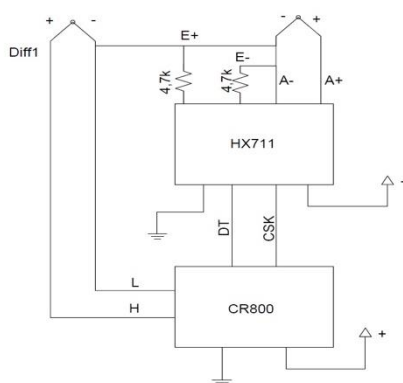


Figura 1. Esquema eletrônico do circuito usado para calibração do HX711 e o conversor A/D interno do CR800. (Fonte: Autores, 2019).

### 2.2. Medição de fluxo de seiva pelo método de pulso de calor usando A/D HX711 em casa de vegetação na cultura de limoeiro.

Para validar o uso do conversor HX711, foi desenhado um registrador de dados de baixo custo, o qual usa uma placa de desenvolvimento Arduino Pro Mini (microcontrolador ATmega 328P 5V 16 MHz), acompanhada de circuito de relógio e módulo de cartão de memória, além de dois

conversores A/D, utilizada para ler uma sonda de medição de fluxo de seiva, pelo método de pulso de calor.

A sonda é composta por três terminais, dois termopares tipo T e um aquecedor de constantan, os quais foram inseridos no caule de uma planta jovem de limão, Figura 2. Para determinar a direção e velocidade do fluxo da seiva na planta, utilizou-se o método de pulso de calor, que estuda o movimento de pulso de calor no fluxo de seiva. Aplicou-se calor constante por 10 segundos através do terminal aquecedor, e após 150 segundos determinou-se o incremento de temperatura. As medições foram realizadas durante quatro dias, obtendo-se dados médios a cada 15 minutos.

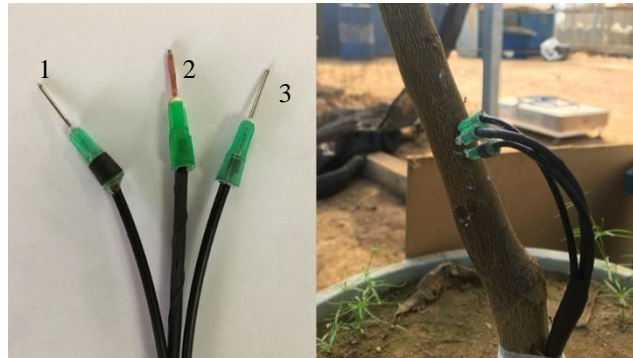


Figura 2. A) 1 – Termopar superior; 2 – Aquecedor; 3 – Termopar inferior; B) sondas inserida no caule da planta jovem de limão. (Fonte: Autores).

Todas as técnicas de velocidade de pulso de calor são altamente sensíveis a erros decorrentes de espaçamento impreciso da sonda. Burgess (2001) fez uso de equações para amenizar estes erros, das quais três foram utilizadas neste trabalho. A Equação 1 calcula o ajuste para o desalinhamento da sonda, a Equação 2 a velocidade de pulso de calor multiplicado pelo coeficiente de correção da ferida causada pela inserção do termopar,  $\beta$ , por fim, a Equação 3 determina o fluxo de seiva.

$$x_2 = \sqrt{4ktln \frac{v_1}{v_2} + x_1^2} \quad (1)$$

$$V_c = \frac{4ktln \frac{v_1}{v_2} - x_2^2 + x_1^2}{2t(x_1 - x_2)} 3600\beta \quad (2)$$

$$F_s = V_c A \quad (3)$$

Em que, para o fator  $k$  da difusividade térmica da madeira foi utilizado o valor calculado para a cultura do Mogno,  $k = 0,00007861 \text{ cm}^2/\text{s}$ , e o coeficiente empírico de correção da ferida  $\beta = 1,7585$ , conforme metodologia de Burgess et al, (2001); e  $A$  é a área do xilema do limoeiro.

### 3. Resultados e Discussão

A partir dos dados obtidos de temperatura no registrador de dados CR800 da Campbell Scientific®, forem estimadas as variações da porcentagem de fundo de sinal do HX711, Figura 3, assim foi construído um modelo linear para fazer a calibração do sistema, Equação (4).

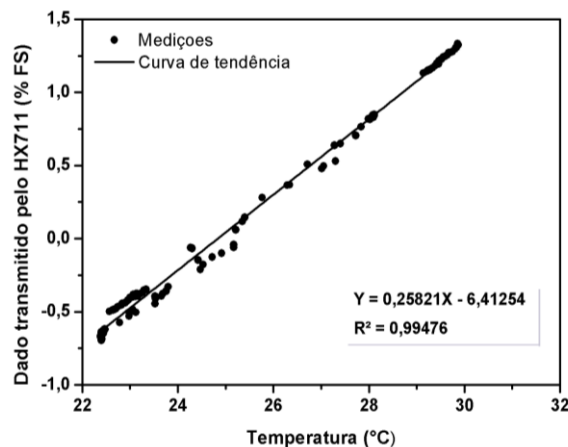


Figura 3. Modelo de regressão linear aplicado aos dados coletados utilizando HX711

$$T = (FS + 6,41254) / 0,25821 \quad (4)$$

Em que,  $T$  é a temperatura estimada pelo HX711; e  $FS$  estimado na Equação 1.

O modelo teve um ajuste de 99,5% de acordo com o coeficiente de determinação obtido e com relação aos dados de HX711 em laboratório, o erro de medição associado ao dispositivo para 95% das medidas foi menor que 12,55509  $\mu V$ , mas a diferença de temperatura para este erro foi de 0,03051°C.

Durante o teste de funcionamento do conjunto sensor de temperatura conversor A/D HX711, a medição da variação de temperatura após o pulso de calor no caule da planta foi satisfatória para o cálculo da relação da variação da vazão de calor entre os termopares da sonda, conforme apresentada na Figura 4 A, detalhando o comportamento da temperatura no caule da planta. Para o cálculo de fluxo de seiva é usado o valor médio do logaritmo natural da vazão entre 60 e 80 segundos após o pulso de calor emitido. A partir dos dados horários e de acordo com as equações 1, 2 e 3 foi estimado o fluxo de seiva das plantas de limão apresentado na Figura 4 B.

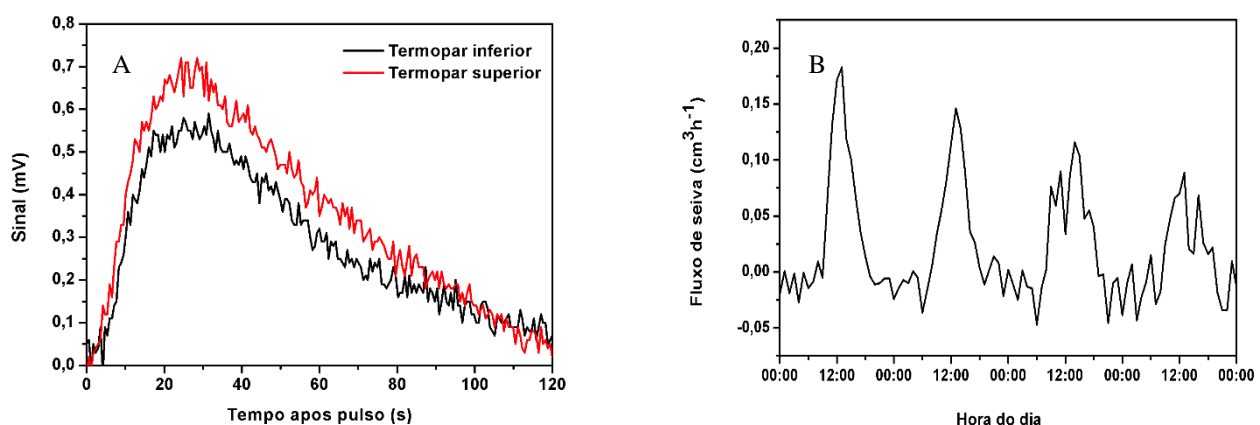


Figura 4 (A). Propagação da temperatura medida pelos sensores de temperatura após o pulso de calor no caule da planta de limão, usando o HX711. (B) Fluxo de seiva estimado pelo método de pulso de calor a partir dos dados obtidos durante quatro dias de medição.

#### 4. Conclusões

O sistema de medição para fluxo de seiva utilizando o conversor HX711 em conjunto com o Arduino Pro Mini apresentou grande eficiência, fácil manuseio, com precisão de microvolts, demonstrando ser uma aplicação confiável viabilizando o desenvolvimento de futuras pesquisas na área.

### **Agradecimentos**

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB, a CAPES e ao Núcleo de Engenharia Água e Solo – NEAS pela oportunidade.

### **Referências**

- AVIA *Semiconductor*. *24-Bit Analog-to-Digital Converter (ADC) for Weigh Scales*. Disponível em: <[https://cdn.sparkfun.com/datasheets/Sensors/ForceFlex/hx711\\_english.pdf](https://cdn.sparkfun.com/datasheets/Sensors/ForceFlex/hx711_english.pdf)>. Acesso em 19 de agos, 2019.
- BURGESS, Stephen SO et al. An improved heat pulse method to measure low and reverse rates of sap flow in woody plants. *Tree physiology*, v. 21, n. 9, p. 589-598, 2001.
- MARSHALL, D.C. Measurement of sap flow in conifers by heat transport. *Plant Physiology*, Rockville, v.33, p.385396, 1958.
- VELLAME, Lucas, SILVA, Alisson. Sistema Solo-Água-Planta-Atmosfera e Manejo da Irrigação em Plantas Perenes. *Inovare Book*. p. 151 a 167, 2014.
- VENTURIN, A. Z. Coeficiente de estresse hídrico para o cafeeiro conilon baseado na determinação do fluxo de seiva. Campos dos Goytacazes, 2016. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, 2016.

**BALANÇO DE ÁGUA NO SOLO: SENSORIAMENTO *versus* MODELAGEM  
MATEMÁTICA**

I. L. N. Santos<sup>1,\*</sup>, J. S. Benítez<sup>1</sup>, E. S. Dantas<sup>1</sup>, J. J. Santana Junior<sup>1</sup>, F. J. N. Modesto<sup>1</sup>, A. J. P. Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Rua Rui Barbosa, 710, 44380-000, Cruz das Almas, Bahia,

<sup>2</sup> IF Baiano, Rua Waldemar Mascarenhas, s/n 44350-000, Governador Mangabeira, Bahia

\* Autor correspondente, e-mail: igorsantos1993@gmail.com

**Resumo:** O balanço de água no solo (*BAS*) é um processo necessário para realizar planejamento e manejo da irrigação. O *BAS* pode ser realizado com uso de diferentes metodologias, das quais, no presente trabalho foram avaliadas três: (i) modelagem matemática utilizando o modelo *SWAP*; (ii) sensoriamento da água no solo utilizando sondas *TDR*; e (iii) sensoriamento da água no solo utilizando sondas eletrônicas de baixo custo desenvolvidas no laboratório de instrumentação Agrícola da *UFRB*. Os três métodos foram avaliados em relação a lisimetria de pesagem. Todos os métodos analisados apresentaram uma forte relação com o método padrão (lisímetro de pesagem) no primeiros 30% do tempo, enquanto a umidade volumétrica estava acima de 33%, embora tendo a mesma tendência, as estimativas finais se distanciaram do método padrão.

**Palavras-chave:** Balanço de água no solo, instrumentação, sensor de baixo custo.

**COMPARISON OF METHODS FOR ESTIMATE OF EVAPORATION BASIED ON SOIL  
MOISTURE**

**Abstract:** Soil water balance (*SWB*) is a necessary process for irrigation planning and management. The *SWB* can be performed using different methodologies, from which, in the present work three were evaluated: (i) mathematical modeling using the *SWAP* model; (ii) ground water sensing using *TDR* probes; and (iii) soil water sensing using low cost electronic probes developed at the *UFRB* Agricultural Instrumentation Laboratory. The three methods were evaluated in relation to the weighing lysimeter. All methods presented a strong relationship with the standard method (weighing lysimeter) on the first 30% of the time, while the volumetric humidity was above 33%, although with the same trend, the final estimates deviated from the standard method.

**Keywords:** Soil water balance, agricultural instrumentation, low cost sensor.

**1. Introdução**

Diversos estudos indicam o aumento de produção agrícola através da irrigação eficiente, fornecendo racionalmente água às culturas. Irrigar eficientemente uma lavoura exige o conhecimento de diversas variáveis ambientais atuantes sob a dinâmica relação entre a planta e o solo, tais como umidade e temperatura do solo. Diversos instrumentos de coleta de dados encontram-se disponíveis no mercado, porém, muitos deles são inviáveis, devido ao alto custo de aquisição e dificuldade de manuseio (TEXEIRA et al., 2016).

Existem diversos métodos para a estimativa do armazenamento de água no solo, que se baseiam em variados princípios, podendo ser modelos matemáticos, como o modelo agrohidrológico *Soil Water Atmosphere Plant - SWAP* (Kroes et al., 2017); variação de peso e volume, como o lisímetro; instrumentos eletrônicos que possibilitam o sensoriamento de água no solo com alto custo, como sondas *Reflectometria no Domínio do Tempo* (*TDR*); ou ainda instrumentos eletrônicos de baixo custo e de fabricações próprias, que podem se basear, por exemplo, na plataforma Arduino.

A plataforma embarcada Arduino possui um microcontrolador capaz de desenvolver inúmeras aplicações de controle, automação e interatividade, o qual possui hardware e software de fácil utilização e compatível com diversos sistemas operacionais (CUNHA e ROCHA, 2016).

O TDR se apresenta como um método não destrutivo, rápido e que possibilita a obtenção de dados de forma contínua e automatizada, com custos relativamente baixos (NARANJO e ATAROFF, 2015). A técnica do TDR baseia-se na relação entre a umidade do solo e a velocidade de propagação de ondas eletromagnéticas nesse meio, utilizando hastes de sondas inseridas no solo, o qual atua como meio dielétrico (UMENYIORA et al., 2012).

O método de lisimetria consiste no uso de tanques contendo solo representativo da área de interesse e apresentam diversas formas e sistemas para medição do balanço de água no solo, porém, os que usam mecanismos de pesagem são considerados os mais precisos e sensíveis para a determinação direta da evapotranspiração, baseado no balanço de massa de água (FARIA, CAMPECHE e CHIBANA et al., 2006).

O modelo SWAP é uma ferramenta importante para a modelagem do fluxo de água no solo, favorecendo o entendimento das alterações no sistema solo-planta-atmosfera, os quais são dependentes do sistema de manejo do solo adotado (MORAIS et al., 2018). O SWAP é projetado para simular processos de fluxo e transporte no nível de escala de campo, oferecendo uma ampla gama de possibilidades para abordar questões práticas e de pesquisa no campo da agricultura, gestão de recursos hídricos e proteção ambiental (KROES et al., 2017).

Deste modo, o presente trabalho teve por objetivo comparar três meios de obtenção de dados de armazenamento de água no solo (TDR, sondas de baixo custo e modelagem matemática) em um Argissolo Amarelo Distrocóeso, na estimativa da evaporação pelo balanço de água no solo.

## 2. Materiais e Métodos

O período de coleta de dados foi iniciado dia 28/07/2019 e finalizado dia 19/08/2019, totalizando 23 dias, conduzido em casa de vegetação com cobertura plástica, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola (PPGEA), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Município de Cruz das Almas, BA (12° 48' S; 39° 06' O; 225 m de altitude). Segundo a classificação de Köppen, com a então modificação proposta por Alvares et al. (2013), o clima é tipo tropical quente e úmido (Af), sem estação seca definida. A precipitação média é de 1.224 mm por ano, com média anual da umidade relativa do ar acima de 82%. Durante o período de estudo o saldo de radiação diário médio foi de 7255 KJ.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>, a temperatura média dentro da casa de vegetação foi 22,34°C e a umidade do ar média foi 83%.

A construção do experimento está descrita na Figura 1, onde para construir a coluna de solo foi utilizado um tubo de PVC de 200mm com um cap em sua extremidade inferior, nele foi instalado uma torneira para o controle da drenagem, o qual foi fechada após a saturação do solo. A cada 10 centímetros foi realizado dois cortes retangulares e paralelos, distanciados em 5 cm, para inserção de uma sonda TDR e uma sonda eletrônica de baixo custo para obtenção de umidade do solo.

As sondas eletrônicas de baixo custo para obtenção da umidade do solo foram fabricadas no laboratório de instrumentação e tecnologia embarcada no PPGEA da UFRB, seguindo a cartilha de Vellame et al.(2019). As sondas utilizam placas de Arduino Pro mini, o qual é responsável pela medição da capacitância da sonda e relacionar tal valor com a umidade do solo.

A camada inferior de 5 cm do tubo foi preenchida com brita e o restante do tubo foi preenchido com solo do tipo Latossolo Amarelo Distrocóeso, obtido no entorno do local de estudo, o mesmo foi peneirado com peneira de 5mm, classificado quanto a sua textura como franco arenoso, o qual apresentava 68,25 % de areia e 11,53 % de argila.

O método usado como referência foi a lisimetria de pesagem, para isso, a coluna de solo foi posicionada sobre uma balança modelo BL5040-60 da Alfa Instrumentos.

Os sensores eletrônicos de baixo custo e as sondas de TDR, foram calibradas usando amostras indeformadas do solo, em que, primeiramente, foi saturado o solo por capilaridade, então posicionado as sondas e posteriormente deu-se início ao processo de secagem - sempre fazendo



pesagens e leituras de frequência. Inicialmente a secagem foi feita ao ar, depois as amostras foram levadas à estufa para acelerar o processo de secagem do solo. Já as balanças foram calibradas através de ciclos de carga e descarga de massas conhecidas, onde foi relacionado a massa com o sinal em  $mV.V^{-1}$ .

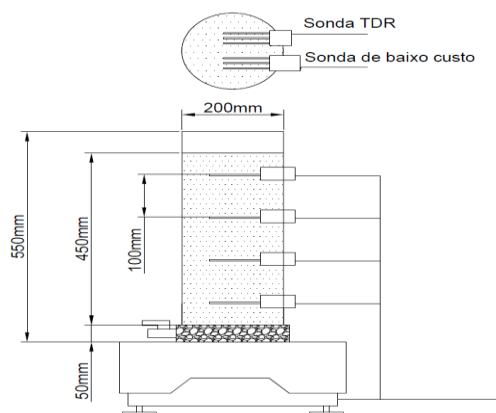


Figura 1. Diagrama experimental.

O balanço de água no solo foi realizado diariamente, onde para o método do lisímetro foi considerado a variação de peso entre dois dias consecutivos, depois a variação de peso (g) era multiplicada pela área do tubo ( $cm^2$ ) para a obtenção da lâmina, Equação 1. Já para as sondas de umidade foi realizado a integração da umidade ao longo do perfil, da profundidade 40 centímetros até a superfície, obtendo o valor diretamente em lâmina, seguindo as Equações 1, 2.

$$h = (P_{t-1} - P_t) * A \quad (1)$$

$$h_{lisímetro} = \int_{-40}^0 \theta(z) dz \quad (2)$$

Em que:  $h$  é a variação do volume de água da coluna de solo no dia (mm);  $P$  é o peso da coluna (g);  $A$  é a área da seção do tubo,  $314 \text{ cm}^2$ ;  $\theta(z)$  é a umidade do solo na camada, a qual varia com a profundidade ( $cm^3.cm^{-3}$ ).

Já o balanço de água no solo calculado pelo modelo SWAP, baseia-se na resolução numérica unidimensional da equação de Richards utilizando a função de Mualem – Van Genuchten e seus respectivos parâmetros (Mualem, 1976; Van Genuchten, 1980). Tais parâmetros foram determinados por modelagem inversa utilizando o HYDRUS – 1D (Šimůnek et al., 2016).

### 3. Resultados e Discussão

Durante o período experimental foi registrado uma variação no armazenamento de água no solo de 39,19 mm no método do lisímetro (método padrão), já pelo sensoriamento de água no solo via sondas de TDR foi registrada uma variação de 29,32 mm, tendo uma imprecisão de 9,87 mm em relação ao padrão, representado uma subestimativa de 25,18%. Por meio do sensoriamento de água no solo utilizando sondas eletrônicas de baixo custo foi calculado 45,86 mm, uma variação de 16,54 mm em relação ao padrão, representando uma superestimativa de 17,01%, já o SWAP apresentou variação de 32,8mm, uma discrepância de 6,38mm e subestimativa de 16,31%.

Analisando a variação do armazenamento de água no solo no tempo, Figura 2, pode-se observar que ambos os métodos apresentaram um comportamento semelhante ao longo do experimento.

Embora os métodos evidenciam a perda de água com a mesma tendência, os três métodos analisados se distanciaram do padrão a medida em que o solo foi tornando-se mais seco. Por exemplo, após 9 dias de medição, quando o armazenamento de água chegou a aproximadamente 88mm, neste ponto as diferenças absolutas em relação ao lisímetro era igual a 1,3mm para a TDR,



0,3mm para os sensores de baixo custo e 1,7mm para o SWAP. Os sensores de baixo custo relacionaram-se ao método padrão com um coeficiente de determinação de 0,933 sendo superado pelo método dos sensores de *TDR* o qual foi 0,969. Mas, observou-se que as variações abruptas nas medições finais poderiam estar ligadas com a perda de contato da sonda com o solo seco - fenômeno observado durante provas de laboratório. A correlação com *SWAP* foi de 0,977, a melhor entre os métodos, isso indica uma boa correlação, porém com erros sistemáticos.

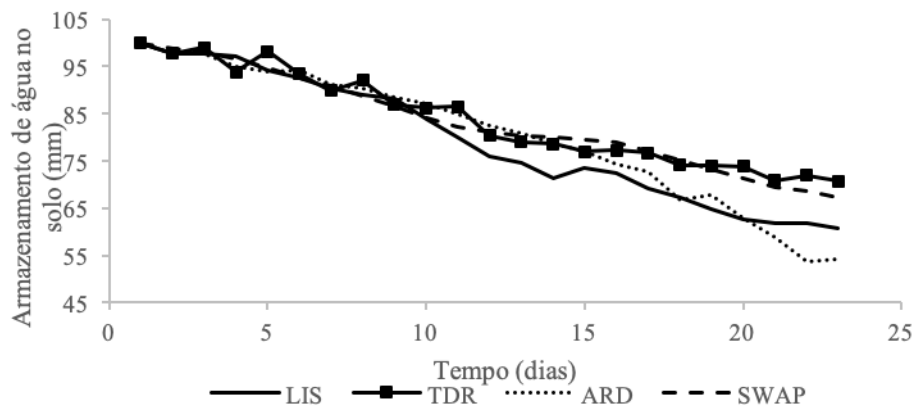


Figura 2. Comparação da variação do armazenamento água no solo pelos métodos estudados: Lisimetria (LIS); Reflectometria no Domínio do Tempo (TDR); Sensores eletrônicos (ARD); Soil Water Atmosphere Plant (SWAP).

Com relação a estimativa gerada pela simulação no *SWAP*, os erros poderiam estar atribuídos às características físicas do experimento e as perturbações ambientais que ele foi susceptível, como dias muito úmidos e de céu nublado no período do experimento, deixando a taxa evaporativa baixa em alguns momentos e ocorreram posteriores incrementos abruptos na temperatura e radiação, que geraram maior evaporação. Adicionalmente, pode-se atribuir a estes resultados o fenômeno de bordadura, pois, a modelagem do *SWAP* considera áreas amplas, diferente da área confinada da coluna, que está com maior contato com o ambiente e conseqüentemente mais susceptível ao acréscimo de evaporação.

#### 4. Conclusões

Todos os métodos permitiram estimar o processo da evaporação de um Argissolo Amarelo Distrocócosos, pela variação do armazenamento de água do solo, tendo boas correlações entre eles.

O sensor eletrônico de umidade consegue estimar a perda de água com a mesma tendência que os demais métodos, o qual gera uma alternativa de baixo custo para realizar balanço de água no solo. Adicionalmente, verificou-se que o modelado agro hidrológico *SWAP* é uma alternativa de modelagem mecanicista para experimentação de diferentes cenários visando o manejo da água na agricultura, obtendo alta similitude com os processos reais.

#### Agradecimentos

As agências de financiamento CAPES, FAPESB, PPGEA /UFRB.

#### Referências

- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. Meteorologische Zeitschrift, v. 22, p. 711 - 728, 2013.
- CUNHA, K. C. B. E ROCHA, R. V. "Automação no processo de irrigação na agricultura familiar com plataforma Arduino",. Revista Eletrônica Competências Digitais para agricultura familiar, v.01, n. 02, p. 62-74, Tupã, SP, 2015.

- Groenendijk, P., Boogaard, H., Heinen, M., Kroes, J., Supit, I., & Wit, A. De., 2016. **Simulation of nitrogen-limited crop growth with SWAP / WOFOST**. Report 2721. Alterra Rapport, 2721. Available at: <http://edepot.wur.nl/400458>.
- KROES, J.G., J.C. VAN DAM, R.P. BARTHOLOMEUS, P. GROENENDIJK, M. HEINEN, R.F.A. HENDRIKS, H.M. MULDER, I. SUPIT, P.E.V. VAN WALSUM, 2017. SWAP version 4; Theory description and user manual. Wageningen, Wageningen Environmental Research, Report 2780. Available at: <http://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/416321>.
- MORAES, Moacir Tuzzin; DEBIASI, Henrique; FRANCHINI, Julio Cezar. Modelagem da dinâmica da água em sistemas de preparo de um Latossolo Vermelho. *Scientia Agraria*, Curitiba Jan/Mar2018, v. 19, n. 1, p. 142-152.
- Mualem Y (1976) A new model for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated porous media. *Water Resour Res* 12: 513–522.
- Van Genuchten MTh (1980) A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. *Soil Sci Soc Am J* 44: 892-897.
- NARANJO, María Elena; ATAROFF, Michele. Calibración de equipos TDR para su uso en suelos no disturbados. *Interiencia*, v. 40, n. 6, p. 416-422, 2015.
- Šimůnek J, van Genuchten MTh, Sejna M (2016) Recent developments and applications of the HYDRUS computer software packages. *Vadose Zone J*.
- TEIXEIRA, A. C., SANTOS, R. P., ROSENBAACH, L., NUNES, D. G., SILVA, R. P., BUGS, C. A. (2016) “Monitoramento de variáveis ambientais por meio de um sistema autônomo baseado na plataforma Arduino”, v.8, n. 2. In: Anais do salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão.
- UMENYIORA, C. A.; DRUCE, R. L.; CURRY, R. D.; NORGARD, P.; MCKEE, T.; BOWDERS, J. J.; BRYAN, D. A. Dielectric constant of sand using TDR and FDR measurements and prediction models (timedomain reflectometry)(frequency-domain reflectometry)(Technical report). *IEEE Transactions on Plasma Science*, v. 40, n. 10, p. 2408-2416, 2012.
- VELLAME, L. M.; SILVA, N. D.; NASCIMENTO, F. A. L. CONSTRUÇÃO DE SONDA ELETRÔNICA DE UMIDADE DO SOLO, 2019.

**MONITORAMENTO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DA BORRACHA  
NATURAL DOS CLONES DE SERINGUEIRA RRIM 710, RRIM 728, RRIM 729, E  
RRIM 806 DE JANEIRO A JUNHO DE 2019**

Thaiany Savarez<sup>1,2,\*</sup>; Luana Oliveira Guedes da Silva<sup>1,2</sup>; Maycon Jhony Silva<sup>1,2</sup>; Erivaldo J. Scaloppi Jr<sup>3</sup>; Paulo de Souza Gonçalves<sup>4</sup>, Maria Alice Martins<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, Km 32 SP-310, CEP: 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13561-206, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais / IAC, Votuporanga, São Paulo

<sup>4</sup> Instituto Agrônomo (IAC) / Embrapa, Avenida Barão de Itapura, 1481, 13020-902, Campinas, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: tsavarez@gmail.com

**Resumo:** O Brasil já foi o maior produtor e exportador de borracha natural (BN), porém, hoje o consumo excede sua produção, sendo necessária importação de cerca de 60% do consumo. Visando o aumento da produção nacional e da qualidade da BN, a Embrapa Instrumentação e o Instituto Agrônomo (IAC) têm trabalhado com o melhoramento genético da seringueira para o Estado de São Paulo e avaliação da borracha natural produzida. Desta forma, este estudo tem como finalidade avaliar a qualidade da BN obtida dos clones RRIM 710, RRIM 728, RRIM 729 e RRIM 806, tendo o clone RRIM 600 como controle.

**Palavras-chave:** borracha natural, clones de seringueira, propriedades tecnológicas.

**MONITORING OF TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF THE NATURAL RUBBER OF  
RUBBER TREE CLONES RRIM 710, RRIM 728, RRIM 729, E RRIM 806 FROM JANUARY  
TO JUNE 2019**

**Abstract:** Brazil was once the largest producer and exporter of natural rubber (NR), however, today consumption exceeds its production, requiring importation of about 60% of consumption. Aiming at increasing the national production and the quality of NR, Embrapa Instrumentation and the Agronomic Institute (IAC) have been working with the plant breeding of the rubber tree for the State of São Paulo and evaluation of the natural rubber produced. Thus, this study aims to evaluate the quality of BN obtained from clones RRIM 710, RRIM 728, RRIM 729 and RRIM 806, with clone RRIM 600 as control.

**Keywords:** natural rubber, rubber tree clones, technological properties.

**1. Introdução**

A seringueira (*Hevea brasiliensis*) é uma árvore originária da região amazônica do Brasil. É responsável pela produção das matérias primas conhecidas como látex e borracha natural (BN), produtos de suma importância para a economia mundial.

Nos anos cinquenta, do século passado, o Brasil foi maior produtor e exportador de BN do mundo, mas atualmente produz somente 1,6% do total mundial. Hoje, o consumo brasileiro excede sua produção, sendo necessária importação de cerca de 60% do consumo.

A Embrapa Instrumentação e o Instituto Agrônomo (IAC) têm trabalhado com o melhoramento genético da seringueira para o Estado de São Paulo e caracterização da BN, visando aumentar a produção nacional e a qualidade dessa matéria-prima. Dentro deste contexto, este estudo tem como finalidade avaliar a qualidade da BN obtida dos clones RRIM 710, RRIM 728, RRIM 729 e RRIM 806, tendo o clone RRIM 600 como controle. As amostras foram obtidas por coagulação

natural no Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais no período de janeiro a junho de 2019. Para avaliação da qualidade da BN produzida pelos novos clones, após o processamento e secagem, foram realizados os ensaios: plasticidade Wallace ( $P_0$ ) - NBR ISO 2007, índice de retenção de Plasticidade (PRI) - NBR ISO 2930, viscosidade Mooney ( $V_R$ ) - NBR ISO 289-1, teor de extrato acetônico (EA) - NBR 11597 e teor de nitrogênio (%N) - NBR ISO 1656 (adaptada).

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Plasticidade Wallace ( $P_0$ ) e Índice de retenção de plasticidade**

Para ambas as análises, a preparação da amostra foi feita através da pesagem de BN (20 g). Após, foi passado em calandra lisa e cortados dez corpos de prova (10 mm de diâmetro e espessura de aproximadamente 3,5 mm). Cinco dos corpos de prova foram utilizados para a medida de  $P_0$  e outros cinco para a medida de PRI. Para a  $P_0$ , cada corpo de prova foi envolvido em papel de seda, e colocado em plastímetro de pratos paralelos (Gamma - PG 2000AX). Para o PRI, os corpos de prova foram levados para estufa de degradação (Gamma; 140 °C; 30 min). Após degradação, cada corpo de prova foi envolvido em papel de seda e levado ao plastímetro de pratos paralelos.

### **2.2. Viscosidade Mooney ( $V_R$ )**

Foi pesado (250 g) da manda de BN. Após, foi passado em calandra lisa e então foram cortados dez corpos de prova (10 mm de diâmetro; 6 a 7 mm de espessura). Para a análise, foram utilizados dois corpos de prova a cada medição (quintuplicata). O disco de rotação com a BN e papel celofane foi encaixado em viscosímetro Mooney (Gamma - MGV 2000AX).

### **2.3. Teor de extrato acetônico**

A amostra foi preparada através da pesagem de BN (6 g) que foram posteriormente passados em calandra lisa. Após, a amostra foi cortada em tiras finas e então novamente pesada (triplicata de 2 g). Cada grupo de tiras foi envolvido em papel filtro e colocado em extrator tipo Soxhlet (Marconi - MA487/8). A extração foi realizada com acetona por 16 h. Ao final as amostras foram retiradas do extrator e levadas à estufa (60 °C) até secagem. A secagem é realizada até que as massas fossem estabilizadas.

### **2.4. Teor de nitrogênio**

Foram retirados da manta de BN, pequenos pedaços de diferentes partes que foram posteriormente passados em calandra lisa, cortados e colocados nos porta-amostras, *tin capsule* (alumínio), onde a BN foi pesada juntamente com o óxido de tungstênio (10 mg de borracha e 10 mg de óxido de tungstênio). A análise foi realizada em triplicata. A análise foi feita utilizando um analisador elementar (Perkin Elmer - modelo 2400) com software (EA 2400 Data Manager).

## **3. Resultados e Discussão**

A  $V_R$  está relacionada ao tamanho da cadeia polimérica e também ao emaranhamento da estrutura química. Valores altos indicam longas cadeias com grande emaranhamento, resultando em uma borracha mais dura. Valores baixos indicam uma borracha mole e de difícil manipulação. A norma ABNT NBR ISO 289-1 estipula um valor médio igual a 65 unidades para borracha com boa qualidade. A Figura 1 indica os valores médios obtidos dos clones de Votuporanga no período de janeiro a junho de 2019. Os clones que apresentaram maiores valores foram os RRIM 806 ( $81 \pm 15$ ) e RRIM 600 ( $81 \pm 12$ ), e o de menor valor foi RRIM 728 ( $64 \pm 17$ ). Em junho, com exceção do clone RRIM 710, todos apresentaram uma queda no valor da viscosidade, que pode estar relacionada à mudança na temperatura e precipitação hídrica.

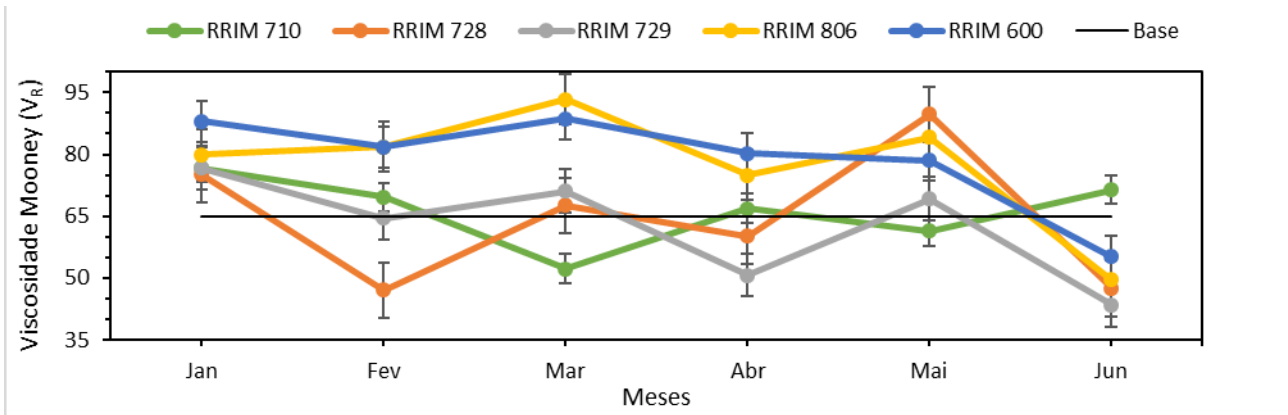


Figura 1. Valores médios de viscosidade ( $V_R$ ) do período de janeiro a junho de 2019 dos clones de Votuporanga – SP.

A  $P_0$  está relacionada com o comprimento da cadeia de poli-isopreno, sendo que valores altos indicam uma cadeia polimérica longa. Os valores obtidos podem ser observados na Figura 2. A norma NBR ISO 2007 estipula um valor mínimo de 30 unidades para esta propriedade. Todos os clones apresentaram valores superiores ao estabelecido pela norma indicando se tratar de uma borracha de boa qualidade, sendo o maior valor o do clone RRIM 600 ( $66 \pm 6$ ) e o menor valor o do clone RRIM 729 ( $53 \pm 4$ ).

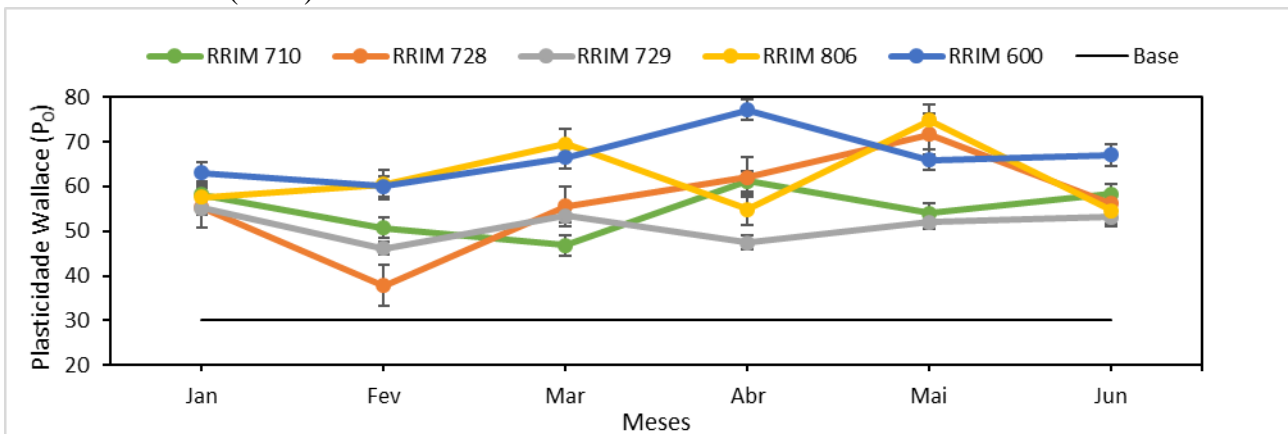


Figura 2. Valores médios de plasticidade Wallace ( $P_0$ ) do período de janeiro a junho de 2019 dos clones de Votuporanga – SP.

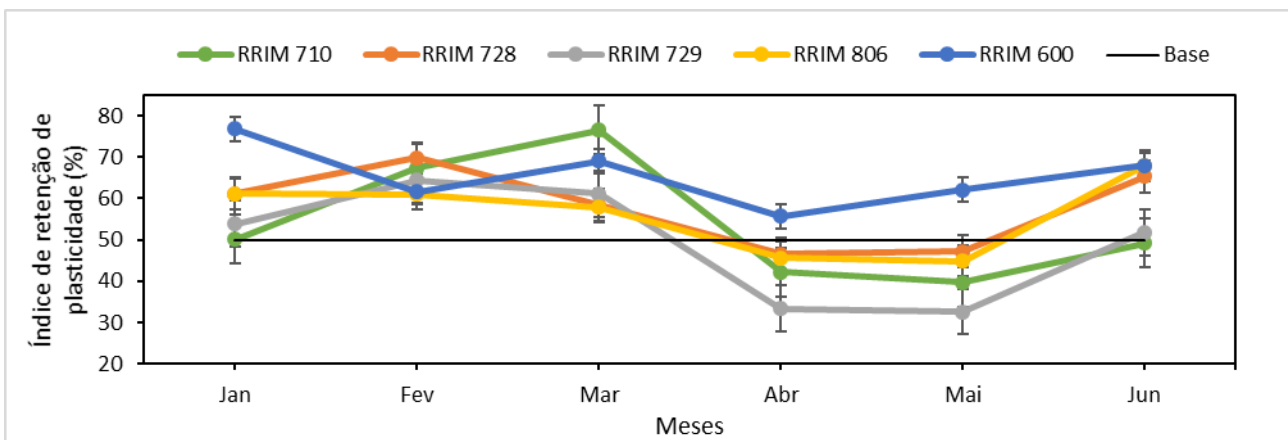


Figura 3. Valores médios de índice de retenção de plasticidade (PRI) do período de janeiro a junho de 2019 dos clones de Votuporanga – SP.

O PRI indica a resistência à degradação termooxidativa da BN, ou seja, o quanto é capaz de

resistir à uma degradação em condições padrões. Valores altos indicam boas qualidades em relação ao envelhecimento e aquecimento. Os valores médios de PRI obtidos podem ser observados na Figura 3. A norma NBR ISO 2930 estabelece um valor mínimo de 50% para uma borracha de qualidade. Todos os clones apresentaram valores médios superiores ao da norma, sendo o maior valor do clone RRIM 600 ( $65 \pm 7$ ) e o menor valor do clone RRIM 710 ( $50 \pm 15$ ). Todos os clones mostraram comportamento semelhante com uma queda no PRI nos meses de abril e maio.

O ensaio EA indica a porcentagem de constituintes não borracha da BN. Estes constituintes são, geralmente, lipídios neutros, glicolipídios e fosfolipídios. Entre os lipídios neutros, encontram-se substâncias que atuam como ativadoras durante o processo de vulcanização, logo, valores acima do estipulado pela norma não são desejáveis, pois indicam uma BN com propriedades que podem vir a ser prejudiciais no processamento de produtos finais. Os valores médios obtidos de EA podem ser observados na Figura 4. A norma NBR 11597 estipula um valor máximo de 3,5%. Observa-se que o clone RRIM 729 foi o único que apresentou valores acima do estipulado pela norma durante todo o monitoramento.

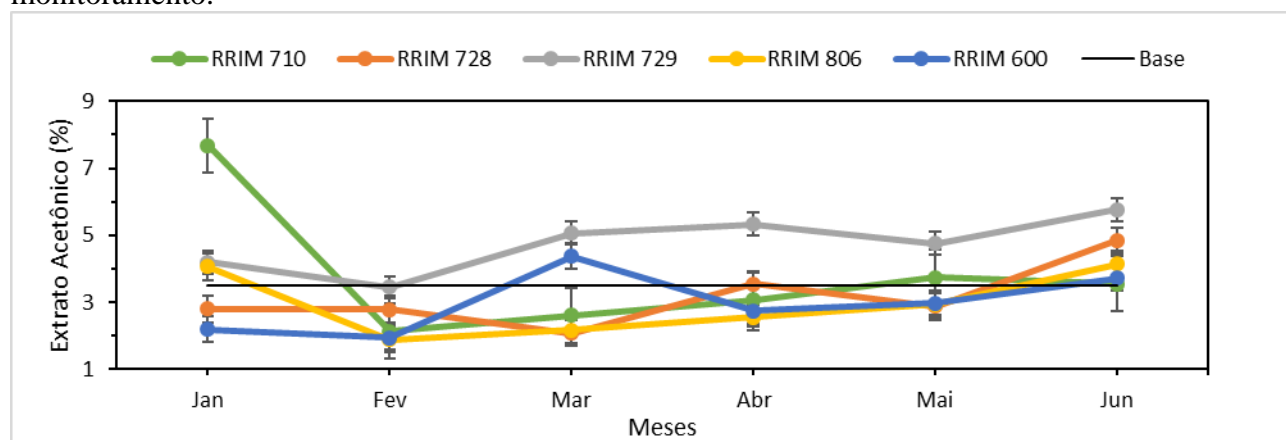


Figura 4. Valores médios de extrato acetônico (EA) do período de janeiro a junho de 2019 dos clones de Votuporanga – SP.

O teor de nitrogênio indica a quantidade de proteínas, aminoácidos e bases nitrogenadas presentes na borracha, valores altos indicam prejuízos no processo de vulcanização e também propriedades de resistência insatisfatórias. Para que a BN seja considerada de boa qualidade, deve apresentar valores médios máximos iguais a 0,6%, estipulado pela norma NBR ISO 1656 (adaptada). Os valores obtidos neste monitoramento podem ser observados na Figura 5. Todos os clones apresentaram valores médios inferiores ao estabelecido pela norma, sendo o maior valor do clone RRIM 710 ( $0,50 \pm 0,07$ ) e o menor valor do clone RRIM 728 ( $0,41 \pm 0,10$ ).

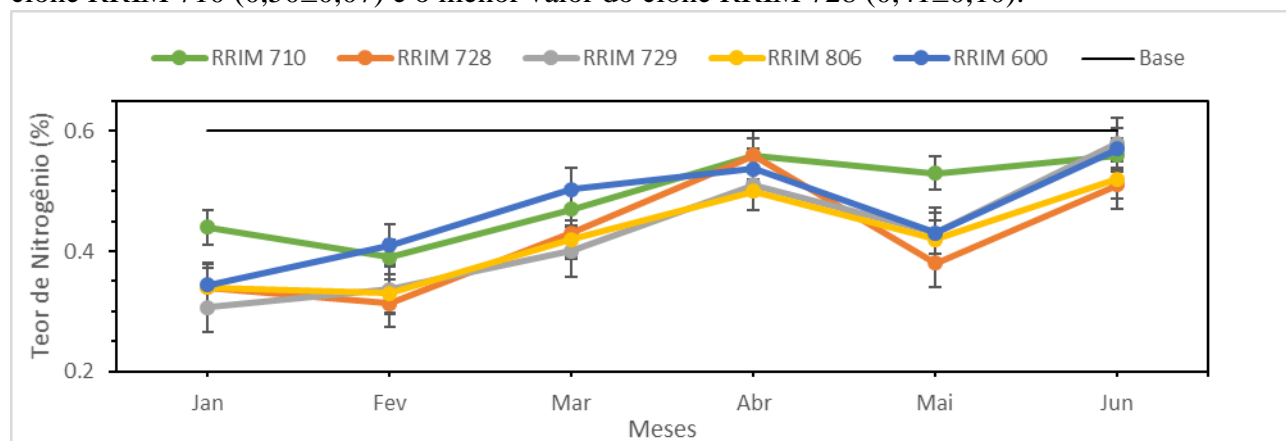


Figura 5. Valores médios de porcentagem de nitrogênio (%N) do período de janeiro a junho de 2019 dos clones de Votuporanga – SP.

#### 4. Conclusões

Através dos resultados, pode-se concluir que a borracha produzida em Votuporanga – SP é de boa qualidade, pois em todas as análises mantiveram resultados dentro ou melhores do estipulado pelas normas, além disso, tais clones podem ser classificados como coágulos de campo e/ou borracha em folhas de classe 10 ou 20.

#### Agradecimentos

Agradeço a Embrapa Instrumentação, ao Instituto Agronômico de Campinas, MCTI/SisNano, Rede AgroNano e CNPq

#### Referências

- ABRABOR. Estatísticas e Tendências da Borracha Natural (2017). Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-ematicas/documentos/camaras-setoriais/borracha-natural/2017/38a-ro/app-abrabor-38ro-borracha.pdf>>. Acesso em: out. 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR: 11597, Borracha natural - Requisitos e métodos de ensaio. Rio de Janeiro, 1997.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR ISO 1656: Borracha natural crua e látex natural - Determinação do teor de nitrogênio. 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR ISO 2930: Borracha natural, crua - Determinação do índice de retenção de plasticidade (PRI). Rio de Janeiro, 2010b.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR ISO 2007: Determinação da plasticidade – Método do plastímero rápido. Rio de Janeiro, 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR ISO 289-1: Borracha, não vulcanizada - Determinações usando um viscosímetro de disco rotativo de cisalhamento. Rio de Janeiro, 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR ISO 2000: Borracha natural - Diretrizes para especificação de borracha especificada tecnicamente (TSR). Rio de Janeiro, 2010.
- CIIAGRO. Centro integrado de informações agrometeorológicas. Disponível em: <<http://www.ciiagro.sp.gov.br/>>. Acesso em: ago. 2019.
- MARTINS, M. A.; GONÇALVES, P. S.; MATTOSO, L. H. C. “Estudo do efeito do método de coagulação nas propriedades tecnológicas da borracha natural crua de clones da série IAC 400”. Anais do 9º Congresso Brasileiro de Polímeros. Campina Grande – PB, 2009. vol. 1.
- SILVA, M.J. "Estudo da influência da composição química nas propriedades da borracha natural dos novos clones de seringueira RRIM 711, RRIM 926 e RRIM 937". São Carlos - SP. 2017.



**TRATAMENTO BIOLÓGICO ANAERÓBIO DE ÁGUA RESIDUÁRIA CITRÍCOLA PARA  
OBTENÇÃO DE BIOHIDROGÊNIO E BIOETANOL**D. C. Silva<sup>1,2,\*</sup>, L. O. Pires<sup>1</sup>, S. I. Maintinguer<sup>2,3</sup><sup>1</sup> Instituto de Química de Araraquara, Rua Prof. Francisco Degni, 55, 14800-060, Araraquara, São Paulo<sup>2</sup> Instituto de Pesquisa em Bioenergia – IPBEN – Laboratório Central, Rua 10, 2527, 13500-230, Rio Claro, São Paulo<sup>3</sup> Uniara - Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente – Rua Carlos Gomes, 1338, 14801-340, Araraquara – São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: daianacsilva91@gmail.com

**Resumo** As indústrias de alimentos no Brasil acumulam uma enorme quantidade de resíduos principalmente as de processamento de frutos cítricos. Entre as possibilidades de valorização destes resíduos, a digestão anaeróbia é uma alternativa promissora na geração bioenergia renovável e controle da poluição. Nesse sentido, esse estudo avaliou o processo de digestão anaeróbia de água residuária citrícola, visando à produção biológica de hidrogênio e etanol a partir de três inoculos: (1) *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824, (2) *Clostridium beijerinckii* ATCC 10132 e (3) consorcio anaeróbio obtido do próprio resíduo citrícola. O experimento foi realizado em reatores anaeróbios em batelada alimentados com efluente citrícola (10 g DQO L<sup>-1</sup>), pH inicial 7,0, a 37°C com *headspace* preenchido com N<sub>2</sub> (99,99%) onde foram obtidos respectivamente (mmol H<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) 21,2; 15,7 e; 37,6 com os inoculos 1; 2 e 3. Foi verificada geração de etanol em 82,8 mg L<sup>-1</sup> no inoculo 3. O consórcio citrícola obtido apresentou predomínio de bacilos Gram+, comprovando diversidade de bactérias anaeróbias produtoras de Hidrogênio e de Etanol na água residuária citrícola.

**Palavras-chave:** agroindústria, fermentação, culturas puras, consórcio anaeróbio.

**BIOLOGICAL TREATMENT OF CITRIC WASTEWATER FOR OBTAINING  
BIOHYDROGEN AND BIOETHANOL**

**Abstract:** Food industries in Brazil accumulate a huge amount of waste especially citrus processing. Among the possibilities of recovery of these residues, anaerobic digestion is a promising alternative renewable bioenergy generation and pollution control. In this sense, this study evaluated the process of anaerobic digestion of wastewater citrus aimed at biological production of hydrogen and ethanol from three types: (1) *Clostridium acetobutylicum* (ATCC 824), (2) *Clostridium beijerinckii* (ATCC 10132) and (3) anaerobic consortium obtained from own citric residue. The experiment was carried out in batch anaerobic reactors fed with wastewater citrus (20 g COD L<sup>-1</sup>), under initial pH 7.0, 37° C with headspace filled with N<sub>2</sub> (99.99%), where they were obtained respectively (mmol H<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) 21.2; 15.7 and; 37.6 with inoculos 1; 2 and 3. Ethanol generation was observed in 82.8 mg L<sup>-1</sup> in inoculum 3. The consortium citrus obtained showed a predominance of Gram + bacilli, proving the diversity of anaerobic bacteria producing hydrogen and ethanol in wastewater citrus.

**Keywords:** agroindustry, fermentation, pure culture, anaerobic consortium.

**1. Introdução**

O atual cenário mundial tem apresentado baixa oferta de combustíveis fósseis. Como consequência uma demanda por fontes de energia com produtos de combustão mais limpos e sustentáveis tem sido requeridos. A digestão anaeróbia se tornou um processo alternativo e econômico utilizado no tratamento de vários tipos de resíduos industriais orgânicos, devido ao valioso biogás produzido pelo processo microbiano, a redução da emissão de gases de efeito estufa e diminuição da poluição ambiental (KHAN, et al., 2018).

O principal estímulo para as pesquisas em processos biológicos é obter um combustível “limpo”, sem geração de gases poluentes que contribuam na mudança climática, sendo, portanto, ecologicamente correto (XUE, et al., 2013). Uma das alternativas para as fontes convencionais de energia fóssil é o hidrogênio ( $H_2$ ), devido a sua alta densidade de energia ( $143 \text{ MJ Kg}^{-1}$ ) (MAZLOOMI e GOMES, 2012) e ser produto de combustão limpa (vapor de água).

Nos últimos anos, há um interesse crescente no uso eficiente de diversos resíduos agroindustriais. A laranja está entre as frutas mais produzidas consumidas no mundo, sendo o Brasil o maior produtor mundial da cultura citrícola, com uma produção de laranja de 18.197 mil toneladas na safra 2016/2017, correspondendo a 36,7% da produção mundial (CITRUSBR, 2017). Em 2017, foram geradas pelas indústrias citrícolas brasileiras cerca de 1.222 mil toneladas de suco de laranja. O estado de São Paulo representa 70,6% da produção citrícola no Brasil (CITRUSBR, 2017). Em média, 34% da produção são transformadas em suco, mas em grandes países produtores (Brasil e Estados Unidos), esta percentagem chega a 96%, o que gera grande quantidade de resíduos. Processos industriais de citros podem gerar águas residuárias altamente poluidoras em termos de valores de demanda química e demanda biológica de oxigênio (DQO e DBO), tornando-se um risco significativo para os cursos de águas locais e solos além da produção de gás de efeito estufa (ABBASI e ABBASI, 2011). A utilização deste resíduo como fonte de carbono para microrganismo no processo de digestão anaeróbia, para a produção de biogás, é uma alternativa eficiente no tratamento deste resíduo. Uma proposta promissora em tratar e valorizar a utilização de resíduos agroindustriais é a aplicação da digestão anaeróbia para a redução de matéria orgânica e eliminar ou reduzir compostos tóxicos, alcançando o controle da poluição ambiental e recuperação de energia.

Nesse sentido, o objetivo dessa parte experimental foi obter consorcio anaeróbio proveniente de resíduo citrícola, aplicar e comparar diferentes culturas puras com o consorcio anaeróbio obtido visando à produção de hidrogênio em reatores anaeróbios alimentados com efluente citrícola.

## 2. Materiais e Métodos

Água residuária citrícola oriunda do processamento de cítricos cedido pela indústria de produção de suco de laranja (Araras – SP) foi usado como fonte de carbono; mantida e acondicionada em frascos plásticos lacrados, com 1 L de volume, a  $-20^\circ\text{C}$  até sua utilização.

Os inoculos utilizados foram: (1) *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824, (2) *Clostridium beijerinckii* ATCC 10132 e (3) consorcio anaeróbio obtido da água residuária citrícola, conforme descrito a seguir. As culturas puras *Clostridium acetobutylicum* e *Clostridium beijerinckii* (Inoculos 1 e 2), foram reativadas e incubadas, separadamente, em condições anaeróbias a  $37^\circ\text{C}$  e pH inicial 7,0 em meio de cultivo P.Y.G. (*Peptone, Yeast Extract, Glucose*) [ $(\text{g L}^{-1})$  glicose (10); peptona (5,0), extrato de carne (5,0) e extrato de levedura (5,0)], até sua turvação. A seguir, foram realizados repiques em reatores anaeróbios em batelada (30 mL) contendo 15 mL do mesmo meio de cultivo e 15 mL de *headspeace* ( $N_2$ ), com o objetivo de aumentar a biomassa para ensaios de geração de  $H_2$ .

A obtenção do consórcio anaeróbio citrícola [inoculo (3)] foi realizada através da coleta de alíquota de 1 mL do resíduo citrícola e inoculado em reatores anaeróbios em batelada (100 mL), contendo 50 mL de meio de cultivo P.Y.G. e 50 mL de *headspeace* ( $N_2$ ), em pH inicial 7,0 e mantido a  $37^\circ\text{C}$ , em repouso, por 72 horas. Posteriormente, foi realizado o enriquecimento celular pela técnica de diluições seriadas ( $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ ), repetidas vezes em meio de cultivo P.Y.G. pH inicial 7,0 e mantidos a  $37^\circ\text{C}$  por 120 horas.

Os inoculos (1), (2) e (3) foram reativados em triplicatas de reatores anaeróbios em batelada (30 mL) contendo 15 mL de meio PYG e *headspeace* (15 mL) preenchido sob fluxo de  $N_2$  (99,99%) para manter as condições anaeróbias, pH inicial 7,0 a  $37^\circ\text{C}$ , por 72 horas, com o objetivo de favorecer o crescimento das bactérias anaeróbias presentes na amostra. A seguir, a biomassa obtida foi centrifugada e os sedimentados foram inoculados em reatores anaeróbios em batelada, conforme ensaios descritos a seguir. Foram realizadas análises de microscopia ótica com técnica de coloração de Gram (RIBEIRO; SOARES, 1993) para observação das morfologias e quantificação de bactérias fermentativas por técnica de *Pour Plate* para o inoculo 3 em quantificações de *Clostridium* sp.,

*Bacteroides* sp., *Lactobacillus* sp. e *Streptococcus* sp. em Unidades Formadoras de Colônias por mL, em meio seletivo. (SONG et al., 2012).

Triplicatas de reatores anaeróbios em batelada (500 mL) foram operadas contendo 250 mL de meio reacional: água residuária citrícola (10 g DQO L<sup>-1</sup>) como fonte de carbono em meio de cultivo [(g L<sup>-1</sup>) peptona (5,0), extrato de carne (5,0) e extrato de levedura (5,0)], em pH inicial 7,0, mantidos em repouso a 37°C por 51 horas com *headspace* (250mL) preenchido com N<sub>2</sub>, e (1 g L<sup>-1</sup> STV) dos inoculos (1); (2) e (3) separadamente. Foram monitoradas as análises de produção biogás, ácidos e álcoois, pH e consumo de carboidratos totais, conforme metodologias descritas no item a seguir. As determinações de DQO, sólidos totais voláteis, pH e crescimento microbiano por espectrofotometria (ABS 600 nm) foram realizadas de acordo com APHA, AWWA, WEF (2005). Carboidratos totais foram determinados de acordo com Dubois et al. (1956). As concentrações de ácidos graxos voláteis e álcoois pela metodologia de Adorno, et al. (2014).

A quantificação do gás hidrogênio gerado, foi realizada por deslocamento de volume adaptado de Aquino et al. (2007). Os dados de produção de H<sub>2</sub> dos reatores alimentados com resíduos citrícolas, em mmol H<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, foram ajustados nos valores médios obtidos das triplicatas dos reatores em batelada, utilizando o software Statistica®, a taxa máxima de produção de hidrogênio (R<sub>m</sub>), o valor máximo de produção estimado (P) e o tempo estimado da fase *lag* (L). Tais parâmetros são obtidos pelo ajuste sigmoidal não linear da função de Gompertz modificado (TORQUATO et al., 2017).

### 3. Resultados e Discussão

A água residuária citrícola apresentou pH 11,12; 22,40 g DQO L<sup>-1</sup>, 6,22 g L<sup>-1</sup> de carboidratos totais, sólidos totais de 8,2 g L<sup>-1</sup>, sólidos voláteis de 4,5 g L<sup>-1</sup> e coloração amarronzada (visual). Com os resultados da caracterização do resíduo citrícola, principalmente o pH 11,12 foi um indicativo da ausência de arqueias metanogênicas, uma vez que tais microrganismos sobrevivem somente em faixas de pH próximos a 7,0, confirmando assim a hipótese da presença de bactérias fermentativas responsáveis pela geração do biogás verificado nos frascos contendo água residuária recebidos pela agroindústria citrícola.

No consórcio de microrganismos anaeróbios isolados da água residuária citrícola (inoculo 3) foram verificadas Unidades Formadoras de Colônias (UFC mL<sup>-1</sup>): *Clostridium* sp (3x10<sup>5</sup>), *Bacteroides* sp. (4x10<sup>5</sup>), *Lactobacillus* sp. (4x10<sup>5</sup>), *Streptococcus* sp (5x10<sup>4</sup>) e *Veillonella* sp (3x10<sup>5</sup>). Para o meio seletivo do gênero *Enterobacter* sp. não foi verificado crescimento de colônias. Tais resultados corroboraram com a microscopia que revelou a predominância de bacilos Gram +, morfologia característica de microrganismos com potencial de produção de H<sub>2</sub>. (ETCHEBEHERE et al., 2016). A ausência do gênero *Enterobacter* no consorcio anaeróbio citrícola provavelmente se deu pelo fato do preparo dos meios de cultivo em condições anaeróbias que podem ter inibido o desenvolvimento de bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas (MAINTINGUER et al., 2017). A morfologia do consorcio anaeróbio citrícola foi de bacilos Gram + e cocos. Nos reatores alimentados com resíduo citrícola foi observada a predominância de bacilos Gram positivos, os quais podem ser microrganismos pertencentes ao gênero *Clostridium*, que são os principais produtores de H<sub>2</sub> e etanol.

Os ácidos gerados em concentrações mais elevadas foram acético e propiônico, para os inoculos 1, 2 e 3. O ácido butírico se manteve presente em concentrações mais reduzidas, variando de 8,0 a 9,9 mg L<sup>-1</sup> no decorrer dos ensaios. Com 21 horas de operação foi verificada produção de etanol para todos os inoculos. As concentrações máximas de etanol foram de 27,1 e 28,7 mg L<sup>-1</sup> em 30 horas de operação nos reatores operados com as culturas puras (inoculos 1 e 2, respectivamente). Entretanto, a maior concentração de etanol foi de 82,8 mg L<sup>-1</sup> em 45 horas de operação nos reatores com o consórcio citrícola (inoculo 3). A fermentação etanólica foi favorecida nos reatores inoculados com o consorcio citrícola. Os ácidos acético e butírico são produzidos na primeira fase da fermentação, juntamente com o consumo de glicose, crescimento celular e a produção de Hidrogênio. Entretanto, quando a célula entra na fase estacionária de crescimento, o metabolismo das células sofre mudança, assim inicia-se a produção de solventes. Concentrações mais altas de

ácido acético e butírico favorecem a produção de gás hidrogênio. No presente estudo foram observadas concentrações elevadas de ácido acético e, provavelmente foi consumido pelos microrganismos que produziram  $H_2$ . Os reatores anaeróbios operados com o inoculo (3) apresentaram valores mais elevados de geração de Hidrogênio ( $37,6 \text{ mmol } H_2 \text{ L}^{-1}$ ) do que os obtidos nos reatores com as culturas puras que são conhecidas como produtoras de Hidrogênio [ $21,2 \text{ mmol } H_2 \text{ L}^{-1}$  (inoculo 1) e  $15,7 \text{ mmol } H_2 \text{ L}^{-1}$  (inoculo 2)] (Figura 1).

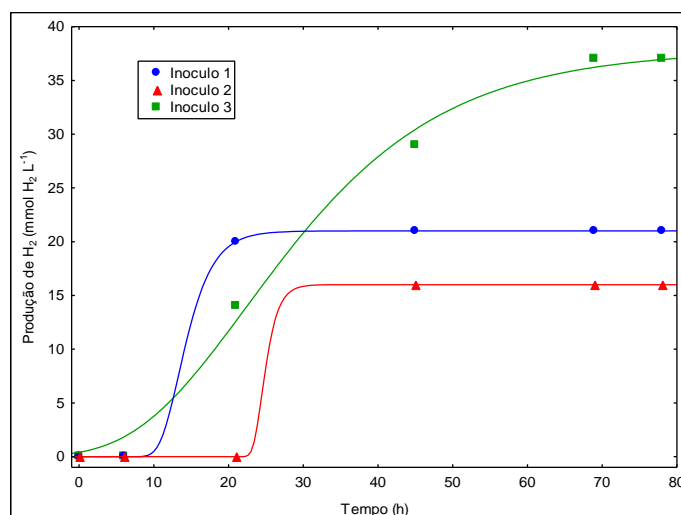


Figura 1. Ajuste sigmoide da função de Gompertz modificada nos inoculos 1 (◆), 2 (▲) e 3 (■) em reatores anaeróbios alimentados com resíduo citrícola.

Soares et. al., (2018) avaliaram a produção de hidrogênio a partir de bagaço de cana em pré-tratamento hidrotérmico em reatores anaeróbios em batelada (1L), com inoculo (10% v/v) proveniente de solo e resíduo de compostagem e substrato, em pH 6,0 a 37°C por 400 horas e obtiveram  $1,50 \text{ mmol } H_2 \text{ L}^{-1}$  utilizando  $2,77 \text{ g L}^{-1}$  de extrato de levedura e  $5,84 \text{ g L}^{-1}$  de bagaço de cana pré-tratado. Tais resultados foram inferiores aos do presente trabalho para os reatores alimentados com efluente bruto citrícola gerando  $H_2$  ( $21,2$ ;  $15,7$  e  $37,6 \text{ mmol } H_2 \text{ L}^{-1}$ ) respectivamente para os ensaios com os inoculos (1, 2 e 3) testados. Pelo ajuste sigmoide da função de Gompertz modificada, os parâmetros estimados de fase lag (L), produção máxima (P) e taxa de produção ( $R_m$ ), foram respectivamente para os ensaios 1, 2 e 3:  $L = 7,6$ ;  $10,8$  e  $23,3$  horas;  $P = 37,8$ ;  $21,0$  e  $16,0 \text{ mmol } H_2 \text{ L}^{-1}$ ; e  $R_m = 0,9$ ;  $3,1$  e  $4,9 \text{ mmol } H_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), obtidos também pelo tratamento estatístico [(1) 0,997; (2) 1,0 e (3) 1,0], reforçam que o modelo adotado representa efetivamente bem os dados obtidos experimentalmente em reatores anaeróbios em batelada alimentados com resíduos citrícolas.

#### 4. Conclusões

Os testes com efluente bruto citrícola como fonte de carbono apresentaram potencial na produção de hidrogênio. O consórcio anaeróbio advindo do resíduo citrícola apresentou melhores resultados de geração de  $H_2$  do que as culturas puras de *Clostridium* que são reconhecidas em produção de hidrogênio. Na quantificação de bactérias anaeróbias foi revelado diversidade de bactérias anaeróbias presente no efluente bruto citrícola. A digestão anaeróbia de efluente bruto citrícola se mostrou eficiente no tratamento e no seu reaproveitamento e na geração de energia renovável.

#### Agradecimentos

Agradecer a CAPES pela concessão da bolsa de pesquisa e ao laboratório do IPBEN-Rio Claro.

**Referências**

- ABBASI, T., ABBASI, S. A. 'Renewable' Hydrogen: prospects and challenges. *Renewable Sustainable Energy Reviews*, v.15, p. 3034-3040, 2011.
- ADORNO, M. A.T.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Development and validation of two methods to quantify volatile acids (C2-C6) by GC/FID: headspace (automatic and manual) and liquid-liquid extraction (LLE). *Am J Anal Chem*, 5 (2014), pp. 406-414.
- APHA, A. and W. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2005.
- AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L.; FORESTI, E.; SANTOS, M. L. F.; MONTEGGIA, L.O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (ame) em lodos anaeróbios. *Engenharia sanitária ambiental*, v. 12, n. 2, p. 192–201, 2007.
- Citrusbr- Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos. Release: Dados Fechamento Safra 2016/2017 e Estimativa de Estoque de Suco de Laranja para 30/06/2018. Disponível em:< <http://www.Citrusbr.Com/Pressreleases/?Id=311580> >. Acesso em: Novembro, 2018.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.
- ETCHEBEHERE, C.; CASTELLO, E.; WENZEL, J.; PILAR, M. A.; BORZACCONI, L.; BUITRON, G.; CABROL, V. M.; CARRILLO-REYES, J.; CISNEROS-PÉREZ, C.; FUENTES, L.; MORENO-ANDRADE, I.; RAZO-FLORES, E. FILIPPI, G. R.; TAPIA-VENEGAS, E.; TOLEDO-ALARCÓN, J.; ZAIAT, M. et al. Microbial communities from 20 different hydrogen-producing reactors studied by 454 pyrosequencing. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 100, n. 7, p. 3371–3384, 2016.
- KHAN, M. A. NGO, H. H.; GUO, W.; LIU, Y.; ZHANG, X.; GUO, J.; CHANG, S. W.; NGUYEN, D. D.; WANG, J. Biohydrogen production from anaerobic digestion and its potential as renewable energy. *Renewable Energy*, v. 129, p. 754-768, 2018.
- MAINTINGUER, S. I.; LAZARO, C.Z.; PACHIEGA, R.; VARESCHE, M B.A.; SEQUINEL, R.; OLIVEIRA, J. E. Hydrogen bioproduction with *Enterobacter* sp. isolated from brewery wastewater. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 42, p. 152-160, 2017
- MAZLOOMI, K., GOMES, C. Hydrogen as an energy carrier: prospects and challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.16, p. 3024-3033, 2012.
- RIBEIRO, M. C.; SOARES, M. M. S. R. Microbiologia prática: roteiro e manual: bactérias e fungos. Rio de Janeiro: Atheneu, 1993.
- SHINTO, H.; TASHIRO, Y.; KOBAYASHI, G.; SEKIGUCHI, T.; HANAI, T.; KURIYA, Y.; OKAMOTO, M. SONOMOTO, K. Kinetic study of substrate dependency for higher butanol production in acetone–butanol–ethanol fermentation. *Process Biochemistry*, v.43, p.1452-1461, 2008.
- SOARES, L. A.; RABELO, C.A.B.S.; SAKAMOTO, I.K.; DELFORNO, T.; SILVA, E.; VARESCHE, M.B. METAGENOMIC ANALYSIS AND OPTIMIZATION OF HYDROGEN PRODUCTION FROM SUGARCANE BAGASSE. *BIOMASS AND BIOENERGY*, V. 117, P. 78-85, 2018.
- SONG, Z. X. et al. Effects of pretreatment method of natural bacteria source on microbial community and biohydrogen production by dark fermentation. *International journal of hydrogen energy*, v. 37, n. 7, p. 5631–5636, 2012.
- TORQUATO, L. D. M.; PACHIEGA, R.; CRESPI, M. S.; NESPECA, M. G.; OLIVEIRA, J. E.; MAINTINGUER, S. I. Potential of biohydrogen production from effluents of citrus processing industry using anaerobic bacteria from sewage sludge. *Waste management*, v. 59, 2017.

**ANÁLISE DE Ca EM SEDIMENTOS DO RIO PIRACICABA POR LIBS**C. F. Silva<sup>1,\*</sup>, C. P. Morais<sup>2</sup>, K. S. G. Silva<sup>1</sup>, D. M. B. P. Milori<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luís, km 235 - SP-310, 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Universidade de São Paulo, Av. Trabalhador São Carlense, n° 400, 13566-590, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, R. 15 de Novembro, n° 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: cferreiraufscar@gmail.com.

**Resumo:** Os metais caracterizam os elementos mais comumente encontrados em sedimentos de rios urbanos e podem tornar-se tóxicos, uma vez que, não são biodegradáveis e se acumulam no meio ambiente. Apesar de ser benéfico à saúde, o Ca em excesso pode ser prejudicial, por estar associado intimamente com o aumento da dureza e salinidade da água. A utilização da água com alto teor de Ca pode acarretar problemas à saúde, e prejuízos agrícolas e industriais. A análise de sedimentos é uma ferramenta eficiente para avaliar a qualidade dos recursos hídricos, geralmente realizada por técnicas analíticas clássicas, como a titulometria, que gera quantidades consideráveis de resíduos químicos. No entanto, a espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser – LIBS, é uma alternativa às desvantagens associadas às técnicas clássicas de determinação de metais e nutrientes em sedimentos. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um método para determinação de Ca em amostras de sedimentos do rio Piracicaba por LIBS, que foi desenvolvido e validado apresentando um coeficiente de Pearson de 0,86 para a linha de emissão de Ca em 422.69 nm e 0,90 para a linha em 393.39 nm, respectivamente.

**Palavras-chave:** LIBS, Recursos Hídricos.

**CALCIUM ANALYSIS IN PIRACICABA RIVER SEDIMENT BY LIBS**

**Abstract:** Metals characterize the elements most commonly found in urban river sediments and can become toxic as they are not biodegradable and accumulate in the environment. Despite being beneficial to health, excess Ca can be harmful because it is closely associated with increased hardness and salinity of water. The use of water with high Ca content can cause health problems, and agricultural and industrial damage. Sediment analysis is an efficient tool for assessing the quality of water resources, usually performed by classical analytical techniques such as titration, which generates considerable amounts of chemical residues. However, laser - induced plasma optical emission spectrometry (LIBS) is an alternative to the disadvantages associated with classical sediment metal and nutrient determination techniques. Thus, the present work aimed to develop a method for the determination of Ca by LIBS for Piracicaba river sediment samples, which was developed and validated with a Pearson coefficient of 0.86 for Ca emission line in 422.69 nm and 0.90 for the 393.39 nm line, respectively.

**Keywords:** LIBS, Water Resources.

**1. Introdução**

O cálcio caracteriza um elemento benéfico à saúde, porém, em excesso pode ser prejudicial, uma vez que, associado intimamente com o aumento da dureza da água, junto ao magnésio, ocasiona a salinidade da água e o aumento das concentrações de sódio na solução do solo (LUCAS; FOLEGATTI; DUARTE, 2010). A utilização da água dura em excesso pode acarretar problemas à saúde humana como cálculos renais (STRACI, 2012), além de fomentar prejuízos à agricultores que utilizem esse tipo de água para irrigação, pois provoca a redução generalizada do crescimento das plantas cultivadas (CAVALCANTE et al., 2010).

A análise de sedimentos, uma forma eficiente para avaliar a qualidade dos recursos hídricos e obter informações a respeito das atividades antrópicas, permitindo a tomada de medidas apropriadas para a remediação ambiental.

A titulometria consolida-se em uma das técnicas analíticas clássicas, comumente utilizada para determinar a concentração de metais e nutrientes em sedimentos. Contudo, é uma técnica que gera quantidades consideráveis de resíduos químicos, devido a utilização de volumes elevados de misturas oxidantes. No entanto, a espectroscopia de emissão ótica com plasma induzido por laser (LIBS, do inglês – *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*), é uma alternativa às desvantagens associadas ao preparo de amostras, pois propicia a análise direta dispensando o uso de reagentes. Além de apresentar custo relativamente baixo, capacidade de detecção simultânea e multielementar, análise rápida e em tempo real, além da possibilidade de análise *in-situ* (CREMERS; RADZIEMSKI, 2013).

A técnica LIBS utiliza um pulso de laser de alta energia que prepara e excita os átomos da amostra em um único passo. No momento em que o laser incide sobre a amostra, parte de sua superfície é removida, gerando assim um plasma, obtido a partir do superaquecimento dos gases onde as moléculas se rompem e produzem íons e elétrons livres, que, quando perdem energia, emitem uma radiação que é coletada e conduzida à um espectrômetro onde ocorre a separação e detecção dos comprimentos de onda. Após esse processo é possível quantificar grande parte dos elementos da tabela periódica (MIZIOLEK; PALLESCHI; SCHECHTER, 2006). Resultando em uma análise multielementar de diferentes materiais em qualquer estado (NICOLODELLI, 2015). Contudo, a técnica LIBS possui limitações quando comparada às técnicas analíticas clássicas, apresentando menor sensibilidade e complicações na quantificação dos elementos químicos presentes nas amostras, devidos aos efeitos de matriz que prejudicam a calibração, além de provocarem baixa precisão e conseqüentemente, altos Limites de Detecção (LD) (CREMERS; RADZIEMSKI, 2013). Uma alternativa para correção ou até mesmo prevenção dos efeitos de matriz é a otimização experimental, que avalia parâmetros para aumentar a sensibilidade da técnica, gerando espectros com linhas de emissão mais intensas, permitindo assim, a obtenção de menores valores de LD.

Sendo assim, o presente projeto teve como objetivo o desenvolvimento de um método para determinação do elemento Cálcio em amostras de sedimentos provenientes do rio Piracicaba por LIBS.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Coleta das amostras**

As amostras são provenientes de dois pontos do rio Piracicaba, estações 1 e 2, e obteve-se ao todo 17 amostras, que foram coletadas em um testemunho em até 70 cm de profundidade, e fracionada em subamostras de 2, 5 e 10 cm.

### **2.2. Preparo das amostras**

As amostras foram liofilizadas, moídas e compactadas em forma de pastilhas para análise, que obtiveram dimensões de 1 centímetro de diâmetro, 2 milímetros de espessura e 0,5 gramas de massa.

### **2.3. Instrumentação**

As medidas foram realizadas em um sistema DP-LIBS com o laser Nd:YAG operando no comprimento de onda em 1064 nm (IR), pulso com energia máxima de 75 mJ e duração do pulso de 6 ns, gerado por um laser de Nd:YAG Q-switch Ultra (Quantel). Para detectar e selecionar os comprimentos de onda é utilizado um sistema de alta resolução com fibras óticas (Aryelle 400-Butterfly). O espectrômetro opera em duas bandas espectrais, 175-330 nm e 275-750 nm, com uma resolução espectral de 13-24 pm e 29-80 pm, respectivamente, e um dispositivo de carga acoplada intensificada (ICCD) com 1024 × 1024 pixels. A amostra foi colocada em um suporte micro

controlado com movimentos nas direções X-Y tendo um varrimento rápido e fácil do feixe de laser que incide sobre ela. Um gerador de pulsos com oito canais (Quantum Composers Manufacturer, model 9618) foi usado para sincronizar o tempo de atraso entre os pulsos e a detecção durante os experimentos.

#### 2.4. Tratamento de Dados com o Software LIBSsa

O tratamento dos dados das 17 amostras de sedimentos do rio Piracicaba foi realizado no software LIBSsa - *Laser Induced Breakdown Spectroscopy spectra analyser* (STENIO et al., 2018).

As amostras foram importadas para o programa, e tratadas conjuntamente. Outliers (medidas fora do padrão) foram removidos através da ferramenta produto escalar do programa. Foi construído o espectro de correlação com base nos valores de referência de determinação de Ca com a técnica de análise Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado – ICP OES.

Em seguida foi realizado o isolamento das linhas de emissão em 422.69 e 393.39 nm, linhas correspondentes a Ca atômico e iônico respectivamente. A linha de base desses picos foi corrigida por um ajuste linear, e o pico resultante foi normalizado pela área desse ajuste (MARANGONI et al., 2016). Finalmente, utilizou-se um ajuste Lorentziano assimétrico para a obtenção da área das linhas de emissão.

Posteriormente, os dados resultantes da análise no programa LIBSsa foram exportados para o software OriginPro 8.5 para construção de uma curva de calibração. Foram gerados gráficos para as áreas das linhas de emissão de Ca obtidas por LIBS em função da concentração de Ca medida pela técnica de referência. A faixa linear de trabalho foi de 600 a 2200 ppm.

### 3. Resultados e Discussão

No software OriginPro primeiramente foi plotado os dados das áreas dos picos de Ca correspondente as duas linhas que foram trabalhadas, 422.69 e 393.39 nm, e obteve-se como resultado o gráfico disposto na Figura 1.

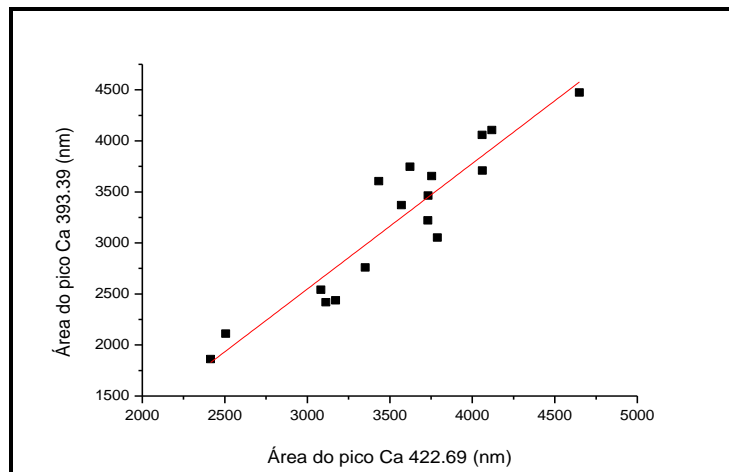


Figura 1. Gráfico de correlação entre as linhas de Ca 422.69 e 393.39 nm.

É possível observar no gráfico acima que as duas linhas de Ca selecionadas, apresentam uma boa correlação linear, com um coeficiente de Pearson (p) de 0,93, evidenciando que ambas as linhas são boas escolhas para se trabalhar, além disso, o alto valor obtido de p também confirma que ambas as linhas são realmente correspondentes ao elemento em questão, e não estão interferidas por outros elementos.

A correlação entre os valores referentes ao pico de Ca correspondente a linha com o comprimento de onda de 422.69 nm obtidos da análise por LIBS e os valores obtidos na técnica de referência ICP OES apresentaram um coeficiente de 0,86, sendo assim uma boa correlação linear (Figura 2).



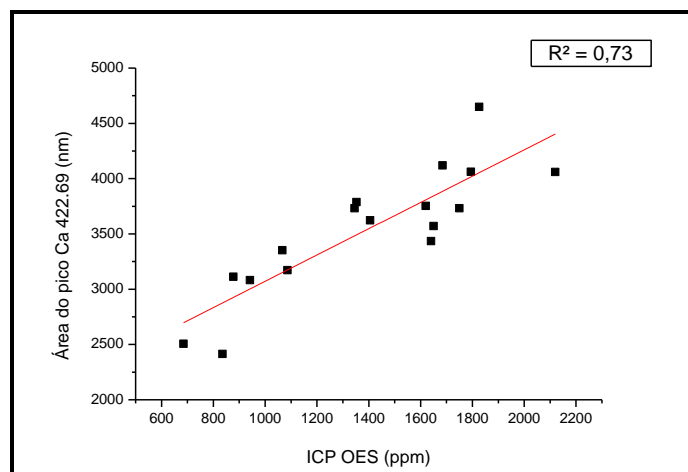


Figura 2. Gráfico de correlação entre a linha de Ca 422.69 nm e a técnica de referência ICP OES.

Os valores referentes ao pico de Ca 393.39 nm obtidos da análise por LIBS e os valores obtidos na técnica de referência ICP OES apresentaram um p de 090, sendo assim, uma boa correlação linear (Figura 3).

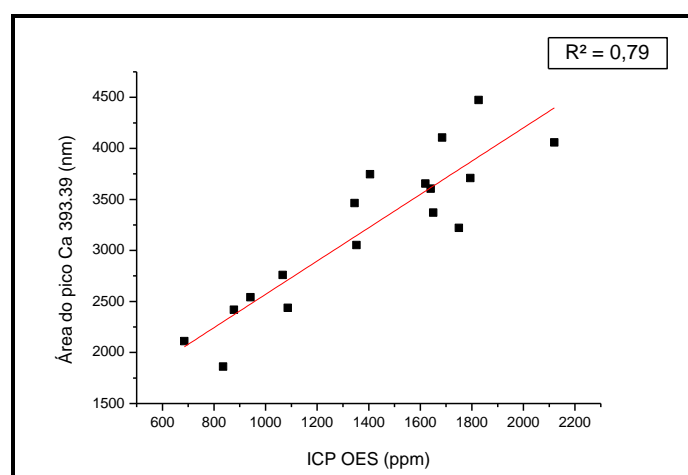


Figura 3. Gráfico de correlação entre a linha da Ca 393.39 nm e a técnica de referência ICP OES.

A validação cruzada é uma ferramenta de verificação de dados, através da qual o método utilizado foi validado, cruzando diversas combinações possíveis, entre os dados obtidos por LIBS com os dados de referência obtidos por ICP OES.

Além de um valor de p alto, as curvas de calibrações apresentaram um coeficiente angular de 1,63mg kg<sup>-1</sup> para a linha 393.39 e de 1,18mg kg<sup>-1</sup> para a linha 422.69 nm, o que demonstra a boa sensibilidade do modelo. Obteve-se também um valor de erro percentual médio absoluto de 6,22 para o Ca atômico e 7,42 para o Ca iônico, que expressa o quanto aproximadamente o valor predito pela equação do modelo erra em relação aos valores de referência.

#### 4. Conclusões

O método para determinação de Ca em sedimentos provenientes do rio Piracicaba, foi desenvolvido, apresentando coeficientes de Pearson altos, para ambas as linhas correspondentes ao elemento, evidenciando assim que o objetivo do projeto foi atingido e que a técnica *LIBS*, de acordo com o presente projeto, apresenta-se como uma alternativa sustentável e confiável para determinação de Ca em sedimentos.

O método apresentou um coeficiente de correlação de 0,86 para o Ca 422.69 e 0,90 para o Ca

393.39 nm, valores que evidenciam uma boa correlação dos resultados obtidos com a técnica de referência ICP OES.

### **Agradecimentos**

Agradeço ao CNPq pelo auxílio financeiro ao projeto de nº 125069/2018-9. À Embrapa Instrumentação pela concessão das instalações para realização do projeto, à Universidade Federal de São Carlos, e ao departamento de Ciências Ambientais – DCAM UFSCar.

### **Referências Bibliográficas**

- CAVALCANTE, L. F.; CORDEIRO, J. C.; NASCIMENTO, J. A. M.; CAVALCANTE, I. H. L.; DIAS, T. J. Fontes e níveis da salinidade da água na formação de mudas de mamoeiro cv. sunrise solo. *Semina: Ciências Agrárias*. Londrina, v. 31, p. 1281- 1290, 2010.
- CREMERS, D. A.; RADZIEMSKI, L. J. *Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*. Wiley. 2013. 302 p.
- LUCAS, A. A. T.; FOLEGATTI, M. V.; DUARTE, S. N. Qualidade da Água em uma Microbacia Hidrográfica do Rio Piracicaba - SP. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. Campina Grande, v. 14, n. 9, p. 937-943, 2010.
- MIZIOLEK, A. W.; PALLESCHI, V.; SCHECHTER, I. *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS): Fundamental and Applications*. 1ª ed. New York: Cambridge University Press, 2006. 640 p.
- 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, p. 78-82, 2016.
- NICOLODELLI, G. et al. Signal enhancement in collinear double-pulse laser-induced breakdown spectroscopy applied to different soils. *Spectrochimica Acta Part B*, p. 23-29, 2015.
- STRACI, L. Água dura e seus riscos. *Agsolve*. 2012. Disponível em: <<https://www.agsolve.com.br/noticias/6523/agua-dura-e-seus-riscos>>. Acesso em: setembro de 2019.
- STÊNIO, K.; VILLAS-BOAS, P. R.; MILORI, D. M. B. P. Desenvolvimento de software para análise de espectros LIBS. In: 6º Simpósio de Biotecnologia da UFSCar (VI SBU). Anais do VI Simpósio de Biotecnologia da UFSCar. São Carlos. 2018.

**CARACTERIZAÇÃO ELEMENTAR DE SOLOS DE BASALTO E ARENITO POR ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X**

J. D. F. e Silva<sup>1,\*</sup>, M. M. R. Costa<sup>1</sup>, L. F. V. da Silva<sup>1</sup>, K. L. Fernandes<sup>1</sup>, J. M. Júnior<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, FCAV/UNESP, Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-100, Jaboticabal, SP

\* Autor correspondente, e-mail: joaodeus.caf@gmail.com

**Resumo:** A espectroscopia de fluorescência de raios X (EFRX) é uma técnica analítica promissora no fornecimento simultâneo de análise quantitativa e elementar da composição do solo. Desse modo, esse trabalho teve como objetivo caracterizar a geologia dos solos do Planalto Ocidental Paulista, utilizando EFRX, amostras representativas da variabilidade fisiográfica dessa região, na camada de solo de 0,0 – 0,2 m. As intensidades dos picos dos elementos Si, Al, Fe e Ti dos espectros obtidos pela EFRX relacionaram-se com as formações geológicas da região. Os espectros obtidos pela fluorescência de raios X revelaram diferença nas intensidades dos picos atribuídos ao Fe, Al, Si e Ti, dentro dos compartimentos geológicos mais representativos, Basaltos da Formação Serra Geral e Arenitos do Grupo Bauru.

**Palavras-chave:** espalhamento de raios-X, baixo custo, geomorfologia.

**ELEMENTAL CHARACTERIZATION OF BASALT AND SANDRAIN BY X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY**

Abstract: X-ray fluorescence spectroscopy (EFRX) is a promising analytical technique in providing simultaneous quantitative and elemental analysis of soil composition. Thus, this work aimed to characterize the geology of the soils of the Paulista Western Plateau, using EFRX, samples representative of the physiographic variability of this region, in the 0.0 - 0.2 m soil layer. The peak intensities of the Si, Al, Fe and Ti elements of the spectra obtained by EFRX were related to the geological formations of the region. The X-ray fluorescence spectra showed differences in the peak intensities attributed to Fe, Al, Si and Ti within the most representative geological compartments, Serra Geral Formation Basalts and Bauru Group Sandstones.

**Keywords:** X-ray scattering, low cost, geomorphology.

**Introdução**

O Planalto Ocidental Paulista possui grande importância socioeconômica para o Estado de São Paulo. O estado destaca-se na produção de culturas de alto valor econômico e é responsável por grande porcentagem da representação agrícola do estado, para as culturas de cana de açúcar, café e citrus. O Planalto Ocidental Paulista estende-se a noroeste das Cuestas Basálticas, compreendendo aproximadamente uma área de 126.000 km<sup>2</sup>, e cerca de 50% do Estado de São Paulo (ALMEIDA, 1964). Essa região situa-se essencialmente sobre rochas do Grupo Bauru, que é constituído principalmente por diversas formações de rochas areníticas com predomínio da formação Vale do Rio do Peixe (57,1% da região do planalto), e algumas manchas cimentadas por carbonato de cálcio, que hoje tem uma área de 370.000 km<sup>2</sup>, estando composta por camadas de espessura submétrica, com estruturação tabular típica e arenitos intercalados com siltitos ou lamitos arenosos e assenta-se diretamente sobre basaltos (FERNANDES, 2004).

Tendo conhecimento da importância dessa região para a agricultura regional e nacional e buscando suprir a grande demanda de informações cada vez mais detalhadas dos solos, técnicas indiretas, como a espectroscopia de fluorescência de raios X (EFRX) têm sido utilizadas e avaliadas. Porém no Brasil esses estudos ainda são incipientes, surgindo assim, como alternativas promissoras para auxílio nesses estudos futuros (VISCARRA ROSSEL et al., 2010; BAHIA et al., 2015).

A partir da análise (EFRX) é possível a quantificação e identificação de vários elementos da tabela periódica de elementos químicos, do Mg ao U (WEINDORF et al., 2014), o que possibilita a identificação dos elementos presentes na amostra analisada e a quantidade do elemento (WEINDORF et al., 2014). A técnica, por ser instrumental e não destrutiva, fornece resultados rápidos de forma a auxiliar na tomada de decisão, minimizando custo e impactos negativo ao ambiente e possibilitando a detecção simultânea de elementos em uma ampla faixa de números atômico e teores (SANTOS et al., 2013).

Dessa forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar os materiais de origem representativos dos solos do Planalto Ocidental Paulista, utilizando EFRX.

## 2. Materiais e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Planalto Ocidental Paulista, que corresponde aproximadamente 126.000 km<sup>2</sup>, ocupando 50% da área total do Estado de São Paulo (Figura 1). A geologia da área é caracterizada principalmente por sedimentos arenosos, argilosos e cascalho, rochas vulcânicas de composição básica e sequências sedimentares. Aproximadamente 2 milhões de hectares da área são ocupados por basaltos da Formação Serra Geral (15,5%), 7,4 de milhões hectares pela Formação Vale do Rio do Peixe (VRP) (57,1%) e 3,6 milhões de hectares pelas outras formações sedimentares (27,5%).

A amostragem foi fundamentada nas informações geológicas e geomorfológicas, e desta forma, foram coletadas 262 amostras na profundidade de 0,0-0,2 m, representativas da variabilidade fisiográfica do Planalto Ocidental Paulista.

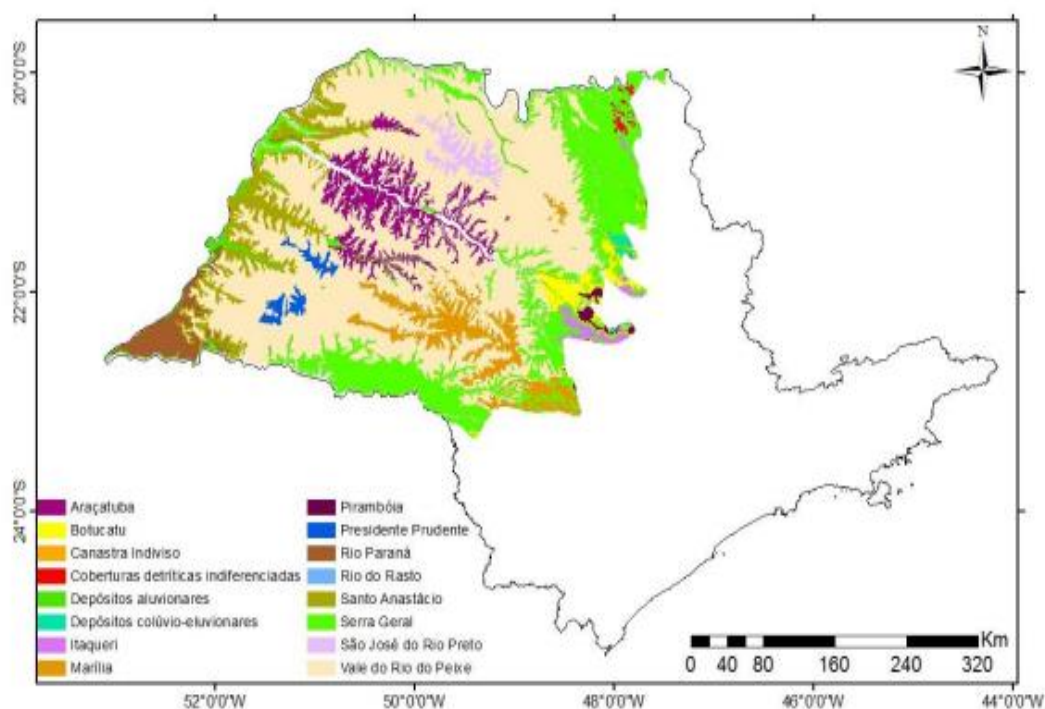


Figura 1. Mapa geológico atualizado do Planalto Ocidental Paulista (escala semidetalhada 1:200.000). Fonte: Fernandes et al. (2007).

### 2.1. Espectroscopia de Fluorescência de Raios X

As amostras de solo foram secas em estufa a 45 °C e passadas em peneira de abertura nominal de 74 µm. As intensidades da fluorescência de raio-X  $K_{\alpha 1}$ , foram obtidas usando um equipamento de espectroscopia de fluorescência de raio-X, modelo NexQc da marca Rigaku. Os raios-X foram gerados por um ânodo de Ag operado a 50 kV. Foram utilizadas para as análises as intensidades dos picos atribuídos aos elementos silício (Si), Alumínio (Al), ferro (Fe) e Titânio (Ti).



### 3. Resultados e Discussão

Quando se observa os espectros obtidos pela EFRX, é notado que os materiais de origem (arenito e basalto) apresentam diferentes intensidades dos picos para os elementos analisados (Fe, Al, Si e Ti) (Figura 2). É visto que dos elementos analisados apenas o silício (Si) apresentou-se com pico mais elevado para o material de origem arenito, sendo que os demais elementos apresentam os maiores picos para o material de origem basalto. Os maiores picos dos elementos Fe, Al, e Ti, para o material de origem basalto, estão relacionados diretamente a constituição básica de minerais que possuem esses elementos na sua estrutura, originado posteriormente os óxidos de ferro, óxidos de alumínio e óxidos de titânio, bem como pelos minerais silicatados de grade 1:1, como a caulinita, em menores proporções (CAMPOS, 2007; CAMARGO, 2010).

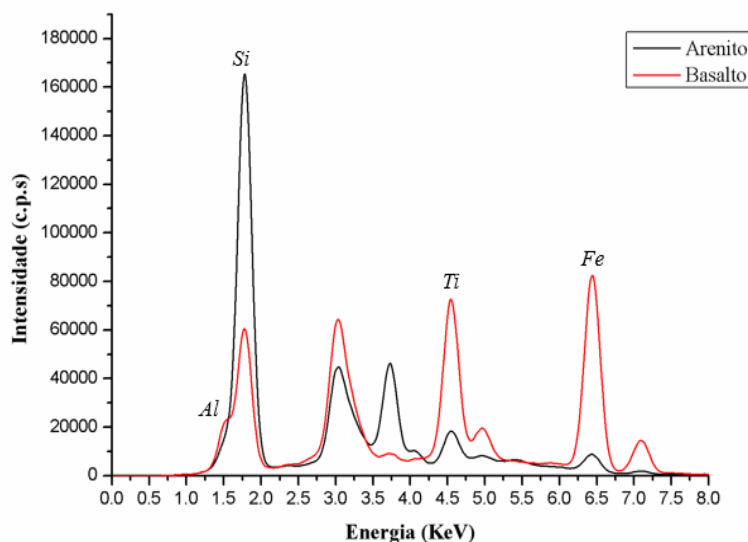


Figura 2. Espectros da EFRX dos solos desenvolvidos de arenito e basalto, dos solos do Planalto Ocidental Paulista.

Quando é comparado os picos do elemento silício (Si) nos materiais de origem estudados, e visto que o arenito apresentou maior intensidade, esse comportamento é esclarecido por material de origem arenítico tem na sua constituição básica e de forma abundante o mineral quartzo, a qual o silício se apresenta como cátion formador dessa estrutura mineral, explicando assim, o alto pico desse elemento no material de origem em questão (GHIDIN, 2006).

### 4. Conclusões

As intensidades dos picos dos elementos analisados por espectroscopia de fluorescência de raio- X possuem relação característica com os materiais de origem, podendo assim, essa técnica ser usada na caracterização de diferentes materiais de origem, como também na quantificação dos elementos presentes nos mesmos.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) e a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelos auxílios financeiros propiciados ao desenvolvimento da pesquisa.

### Referências

- ALMEIDA, F. F. M. Fundamentos geológicos do relevo paulista. Boletim do Instituto Geográfico e Geológico. v.41, p.169-263, 1964.
- BAHIA, A. S. R. DE S.; MARQUES JÚNIOR, J.; SIQUEIRA, D. S. Procedures using diffuse reflectance spectroscopy for estimating hematite and goethite in Oxisols of São Paulo, Brazil. Geoderma Regional, Amsterdam, v.5, p.150–156, 2015.

- CAMARGO, L. A.; MARQUES JR, J.; PEREIRA, G. T.; HORVAT, R. A. Variabilidade espacial de atributos mineralógicos de um Latossolo sob diferentes formas de relevo I - Mineralogia da fração argila. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 32, p. 2269-2277, 2008. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832008000600006>.>
- CAMPOS, M. C. C.; MARQUES JÚNIOR, J.; PEREIRA, G. T.; MONTANARI, R.; CAMARGO, L. A. Relações solo-paisagem em uma litossequência arenitobasalto na região de Pereira Barreto, SP. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 519–529, 2007.
- FERNANDES, L. A. Mapa litoestratigráfico da parte oriental da Bacia Bauru (PR, SP, MG), escala 1:1.000.000. Paraná: Editora UFPR. 2004. p. 53–66. (Boletim Paranaense de Geociências, Documentos, 55).
- SANTOS, E. S. et al. Espectrometria de fluorescência de raios-x na determinação de espécies químicas. *Enciclopédia Biosfera*, v. 9, n. 17, p. 3413–3432, 2013.
- VISCARRA ROSSEL, R. A.; BUI, E. N.; CARITAT, P.; MCKENZIE, N J. Mapping iron oxides and the color of Australian soil using visible–near-infrared reflectance spectra. *Journal of Geophysical Research*. Disponível em: < doi:10.1029/2009JF001645>, 2010.
- WEINDORF, D. C. et al. Influence of ice on soil elemental characterization via portable Xray fluorescence spectrometry. *Pedosphere*, v. 24, p.1-12, 2014b.

**CARACTERIZAÇÃO DE CLASSES DE SOLO DO PLANALTO OCIDENTAL PAULISTA  
POR ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X**

L. F. V. da Silva<sup>1,\*</sup>, M. M. R. Costa<sup>1</sup>, J. D. F. e Silva<sup>1</sup>, K. L. Fernandes<sup>1</sup>, J. M. Júnior<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP

\* Autor correspondente, e-mail: luis\_fernandosilva2013@hotmail.com

**Resumo:** Espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDXRF) é uma técnica analítica promissora no fornecimento simultâneo de análise quantitativa e elementar da composição do solo. Desse modo, objetivou-se caracterizar as classes dos solos do Planalto Ocidental Paulista, utilizando EDXRF. Foram selecionadas amostras de solo representativas da variabilidade do Planalto Ocidental Paulista, na profundidade de 0,0 – 0,2 m. As intensidades dos picos dos elementos Si, Al, Fe e Ti dos espectros obtidos pela EDXRF relacionaram-se com as classes de solos do Planalto Ocidental Paulista. Desta forma, foi observado boa precisão nas curvas da fluorescência para o Si, Al, Fe e Ti em amostras de solo, podendo auxiliar na tomada de decisão.

**Palavras-chave:** espalhamento de raios-X, baixo custo, geomorfologia.

**CHARACTERIZATION OF SOUTH CLASSES OF WESTERN PAULIST PLANALTH BY X-RAY FLUORESCENCE SPECTROSCOPY**

**Abstract:** Dispersive Energy X-ray Fluorescence Spectrometry (EDXRF) is a promising analytical technique in providing simultaneous quantitative and elemental analysis of soil composition. Thus, the objective this study was to characterize the soil classes of the Paulista Western Plateau, using EDXRF. Soil samples which were representative of the variability of that region were selected at 0.0 – 0.2 m depth. The peak intensities of the Si, Al, Fe and Ti elements of the EDXRF spectra were related to the soils classes of the Paulista Western Plateau. Thus, it was observed good a precision in the fluorescence curves for Si, Al, Fe and Ti in soil samples, which can help in decision making.

**Keywords:** X-ray scattering, low cost, geomorphology.

**1. Introdução**

O Planalto Ocidental Paulista, vem se destacando na produção de álcool, açúcar e no cultivo de citros no País, respondendo por 80% da produção nacional. Dos 13 milhões de hectares dessa região, aproximadamente 2 milhões de hectares são ocupados por basaltos (15,5%), 7,4 milhões de hectares pela formação Vale do Rio do Peixe (57,1%) e 3,6 milhões de hectares pelas outras formações sedimentares (27,5%) (FERNANDES et al., 2007).

Devido à grande extensão territorial do Planalto Ocidental Paulista, a diversidade geológica, as classes de solos e na escassez de informações detalhadas que dificultam o melhor aproveitamento dos recursos do solo, e necessário o uso de metodologias práticas e rápidas para determinar os atributos do solo auxiliando no mapeamento da variabilidade destes maiores detalhes. A utilização de técnicas indiretas contribui para um manejo mais preciso, minimizando os erros no manejo do solo e da cultura (CERRI; MAGALHÃES, 2012).

A EDXRF é uma técnica analítica, empregada nas análises de elementos, onde permite determinar o teor destes em uma amostra (WEINDORF et al., 2012). A técnica, por ser instrumental e não destrutiva, fornece resultados rápidos de forma a auxiliar na tomada de decisão, minimizando custo e impactos negativo ao ambiente e possibilitando a detecção simultânea de elementos em uma ampla faixa de números atômico e teores (SANTOS et al., 2013).

Assim sendo, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar as classes dos solos do Planalto Ocidental Paulista, utilizando EDXRF.



## 2. Materiais e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Planalto Ocidental Paulista, que corresponde aproximadamente a 126 mil km<sup>2</sup>, ocupando 48% da área total do Estado de São Paulo (Figura 1). Os solos de maior ocorrência são classificados como Argissolo Vermelho-Amarelo, Latossolos, Latossolo Férricos, Neossolo Litólico, Nitossolo Vermelho e Gleissolo Háptico (Oliveira et al., 1999).

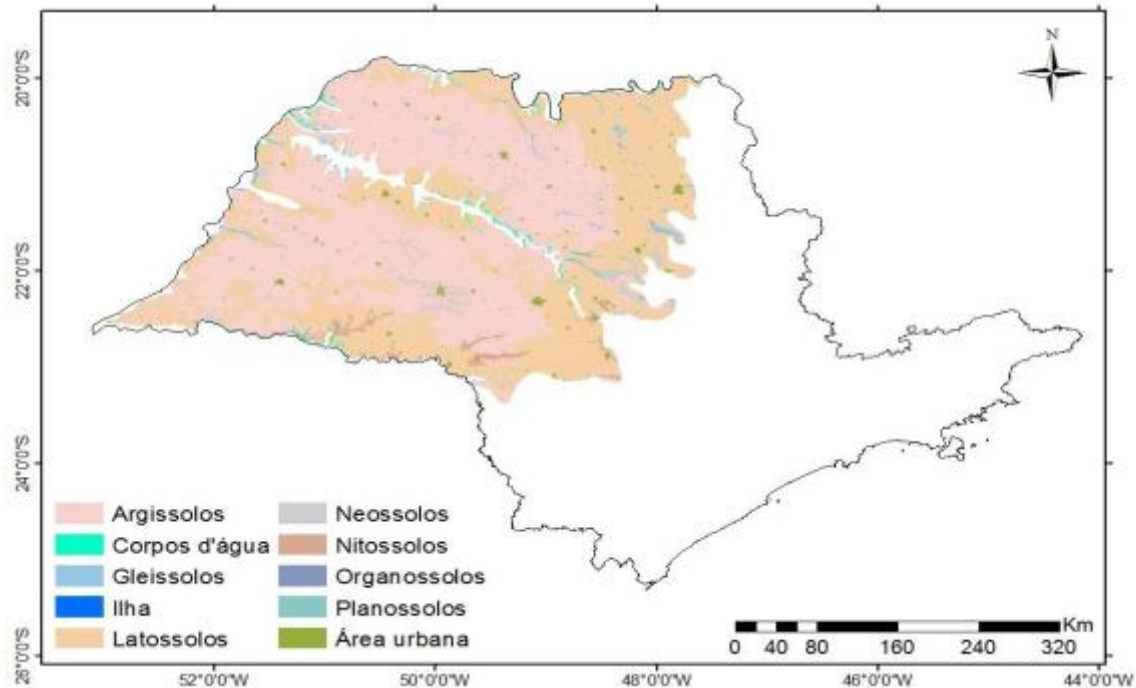


Figura 1. Mapa pedológico do Planalto Ocidental Paulista (Escala: 1:300.000). Fonte: Instituto Agrônomo de Campinas.

A amostragem foi fundamentada nas informações geológicas e geomorfológicas. Desta forma, foram coletadas amostras na profundidade de 0,0-0,2 m, representativas da variabilidade fisiográfica do Planalto Ocidental Paulista.

### 2.1. Análises laboratoriais

A análise granulométrica foi realizada segundo a metodologia da (Embrapa, 2011), utilizando uma solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, como dispersante químico, e agitação mecânica em aparato de baixa rotação, por 16 horas.

### 2.2. Espectroscopia de Fluorescência de Raios X

As amostras foram secas em estufa a 45 °C e passadas em uma peneira de abertura nominal de 74 µm. As intensidades da fluorescência de raio-X K<sub>α1</sub>, foram obtidas usando um equipamento de espectroscopia de fluorescência de raio-X, modelo NexQc da marca Rigaku. Os raios-X foram gerados por um ânodo de Ag operado a 50 kV. Foram utilizadas para as análises as intensidades dos picos atribuídos aos elementos silício (Si), alumínio (Al), ferro (Fe) e titânio (Ti).

## 3. Resultados e Discussão

Os espectros obtidos pela fluorescência de raios X revelaram diferença nas intensidades dos picos atribuídos ao Fe, Al, Si e Ti. A amostra classificada como LATOSSOLO VERMELHO Distroférrico apresentou a maior intensidade dos picos atribuídos ao Fe e ao Ti. Já para o Si e o Al, foi observado um aumento das intensidades dos picos. O LVdf apresentou maior teor de óxidos de ferro que são justificados pela presença deste elemento nos minerais e na fração argila do solo, o mesmo ocorre com titânio (Figura 2).



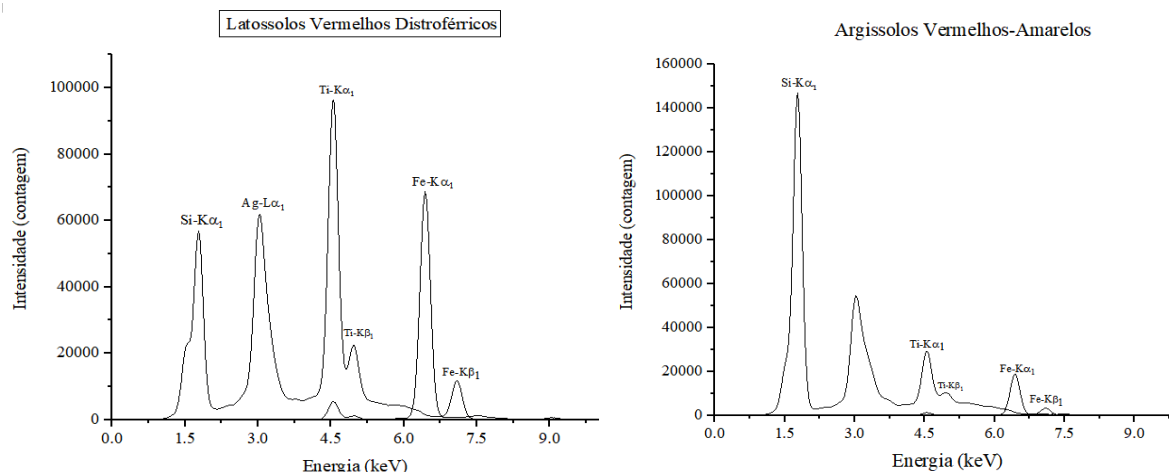


Figura 2. Espectros de EFRX referentes às classes de solo do Planalto Ocidental Paulista.

Os Argissolos apresentaram a maior intensidade dos picos atribuídos ao Si, seguido de Ti e Fe. Todavia, a presença de ferro ocorre independentemente do material de origem, sendo as maiores intensidade do pico de Fe nos solos desenvolvidos. Isto ocorre devido a mineralogia da fração argila de solos areníticos, a variabilidade da composição mineralógica das rochas areníticas presentes no Planalto Ocidental Paulista (SILVA et al., 2010; FERNANDES; COIMBRA, 1994).

#### 4. Conclusões

As intensidades dos picos dos elementos Si, Al, Fe e Ti dos espectros obtidos pela EDXRF, apresentam relação com as classes de solo presentes no Planalto Ocidental Paulista.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) e a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelos auxílios financeiros propiciados para a realização da Pesquisa.

#### Referências

- CERRI, D. G. P.; MAGALHÃES, P. S. G. Correlation of physical and chemical attributes of soil with sugarcane yield. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v. 47, n. 4, p. 613–620, 2012.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Manual de métodos de análise de solo. 2. ed. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 2011. 225 p.
- FERNANDES, L. A.; CASTRO, A. B.; BASILICI, G. Seismites in continental sand sea deposits of the Late Cretaceous Caiuá Desert, Bauru Basin, Brazil. *Sedimentary Geology*, v.199, p. 51-64, 2007.
- FERNANDES, L. A.; COIMBRA, A. M. O Grupo Caiuá (ks): revisão estratigráfica e contexto deposicional. *Revista Brasileira de Geociências*, São Paulo, v. 24, n. 3, p. 164-176, 1994.
- OLIVEIRA, J. B.; CAMARGO, M. N.; ROSSI, M.; CALDERANO FILHO, B. 1999. Mapa pedológico do Estado de São Paulo: legenda expandida. Campinas: Instituto Agrônomo/EMBRAPA Solos, 1999. V.1 64p.
- SANTOS, E. S. et al. Espectrometria de fluorescência de raios-x na determinação de espécies químicas. *Enciclopédia Bioesfera*, v. 9, n. 17, p. 3413–3432, 2013.
- SILVA, A. R.; SOUZA JR, I. G. S.; COSTA, A. C. S. Suscetibilidade Magnética do horizonte B de solos do estado do Paraná. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, Viçosa, v. 34, n. 2, p. 329-337, 2010.
- WEINDORF, D. C.; ZHU, Y.; HAGGARD, B.; LOFTON, J. Enhanced pedon horizonation using portable x-ray fluorescence spectrometry. *Soil Science Society American Journal*, v. 76, n. 2, p. 522-531, 2012.

**SIMULAÇÃO DE PRÁTICAS CONSERVACIONISTAS EM ÁREAS DE PRODUÇÃO  
AGRÍCOLA PARA CONTROLE DA POLUIÇÃO DA ÁGUA: ESTUDO DE CASO DA  
BACIA HIDROGRÁFICA DO RIBEIRÃO RODEADOR/DF**

P.R. Silva<sup>1</sup>, F.H.J. Silva<sup>2</sup>, G. Nunes<sup>3</sup>, Minoti, R.T.<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup> EMATER DF, Parque Estação Biológica, Ed. EMATER-DF, 70.770-915, Brasília, DF

<sup>2</sup> CORPO DE BOMBEIROS MILITAR DO DF, Quartel do Comando Geral do CBMDF  
SAM Lote D Modulo E - CEP 70620-000, Brasília, DF

<sup>3</sup> UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70919-900, Brasília, DF

\* Autor correspondente, e-mail: rtminoti@unb.br

**Resumo:** As práticas de manejo de conservação do solo são medidas importantes com vistas à sustentabilidade ambiental de bacias hidrográficas essencialmente rurais, pois possibilitam a minimização do escoamento superficial, e, conseqüentemente, do aporte de contaminantes. O presente trabalho buscou avaliar a eficiência das medidas conservacionistas (Terraceamento e Faixa filtro) na diminuição da carga de nitrogênio e fósforo produzida na bacia do ribeirão Rodeador no Distrito Federal. Para isso, foi desenvolvida a integração da base de dados, contendo as séries temporais climáticas, com a modelagem hidrológica. Através da modelagem realizada com o SWAT (Soil Water and Assessment Tool), foi possível simular a vazão e a qualidade da água na bacia que é uma das bacias afluentes ao Lago Descoberto, principal manancial do Distrito Federal. O terraceamento foi a medida que apresentou maior remoção na carga de sedimentos e nutrientes. O enfoque de análise permitiu avaliar a eficiência de diferentes práticas de manejo na bacia hidrográfica do ribeirão Rodeador. Trata-se de um enfoque interessante como suporte à decisão relacionada ao controle da poluição difusa no que se refere à definição das melhores práticas de manejo em bacias predominantemente rurais do Distrito Federal.

**Palavras-chave:** poluição difusa, terraceamento, áreas de preservação permanente, qualidade da água, nutrientes.

***SIMULATION OF BEST MANAGEMENT PRACTICES IN RURAL AREAS FOR WATER  
POLLUTION CONTROL: CASE STUDY OF RIBEIRÃO RODEADOR WATERSHED -  
BRAZILIAN FEDERAL DISTRICT***

**Abstract:** Best management practices (BMPs) are important measures related to the environmental sustainability of agricultural watersheds, enabling a minimization of runoff and, consequently, eliminating contaminants. The present work aimed to evaluate the efficiency of BMPs (Terracing and Filter Strip) in reducing the nitrogen and phosphorus loads at the Rodeador Watershed, located in the Brazilian Federal District. For this, a database integration, including climatic time series, with hydrological modeling was developed. Through modeling with the SWAT (Soil and Water Assessment Tool), it was possible to simulate runoff and nutrient loads in the basin, which is one of the tributary basins of Descoberto Lake, the most important source of water supply of the Federal District. Terracing was a measure that showed greater sediment and nutrient load removal. The analysis approach allowed to evaluate the efficiency of different management practices in the Rodeador stream watershed. This is an interesting approach to support the decision on diffuse pollution control that refers to the definition of best management practices in agricultural watersheds in the Federal District.

**Keywords:** diffuse pollution, terracing, filter strips, water quality, nutrients.

## 1. Introdução

As práticas de conservação do solo em áreas rurais, frequentemente chamadas de boas práticas agrícolas (BPAs) ou melhores práticas de manejo (sigla em inglês - BMPs), são amplamente utilizadas como medidas de prevenção ou minimização da poluição gerada por fontes difusas em bacias hidrográficas. Entretanto, a efetividade da adoção dessas práticas dificilmente pode testada em todas as variadas condições em que as práticas agrícolas são desenvolvidas, associando as especificidades de clima, relevo, solos, uso do solo. Uma das formas de disponibilizar aos agricultores, extensionistas rurais ou gestores informações associadas às práticas que devem ser adotadas para maximizar os efeitos ambientais relaciona-se à simulação matemática baseada na aplicação de modelos físicos ou de base conceitual para representar as bacias hidrográficas (ARABI et al., 2008).

Esse enfoque de análise ambiental tem sido amplamente testado. Haas et al. (2017) investigaram a efetividade do uso de BMPs na redução das cargas de nitrato em uma bacia hidrográfica do rio Treene (Alemanha) aplicando o modelo hidrológico Soil and Water Assessment Tool (SWAT). Os autores identificaram que o modelo utilizado foi sensível às variações nos processos espaciais e temporais associados à adoção de canais de drenagem. Chen et al. (2014) também utilizaram o modelo SWAT para avaliar os benefícios da implantação de diferentes tamanhos de faixas de mata ciliar no controle da poluição difusa por nutrientes na bacia hidrográfica do rio Yangtzé (China) e apontaram aos gestores que deveriam adotar planos de manejo diferenciados para cada situação local. Niraula et al. (2013) identificaram áreas de maior contribuição da poluição difusa na bacia hidrográfica do córrego Saugahatchee com base na aplicação de uma análise comparativa de simulações realizadas com dois modelos: SWAT e Generalized Watershed Loading Function (GWLF).

As práticas de manejo e conservação do solo representam uma das melhores alternativas para se alcançar à qualidade ambiental das bacias rurais. Este trabalho de pesquisa teve como objetivo aplicar o SWAT para modelar a bacia hidrográfica do ribeirão Rodeador/DF, afluente ao Reservatório do Descoberto (DF/GO), principal manancial superficial de Brasília. Com base na aplicação do modelo foram simulados e analisados os efeitos da adoção de duas medidas conservacionistas, o terraceamento e a faixa filtro (inserção de áreas de mata ciliar), na redução das cargas de nutrientes que atingem os ambientes aquáticos da Bacia Hidrográfica.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Área de estudo

A bacia hidrográfica do lago Descoberto – BHL D (Fig. 1), situada a montante da bacia do rio Descoberto, apresenta uma área de 452 km<sup>2</sup> e é responsável por 63% do abastecimento público de água do DF (CAESB, 2013). A bacia do ribeirão Rodeador é uma das sub-bacias que compõem a BHL D. A maior parte da área da Bacia Hidrográfica é ocupada por atividades agrícolas. Assim, a principal ameaça para a qualidade ambiental da bacia é a poluição difusa, através da erosão, assoreamento, carreamento de compostos químicos indesejados e pelo aporte de cargas de contaminantes provenientes das áreas de criação de animais.

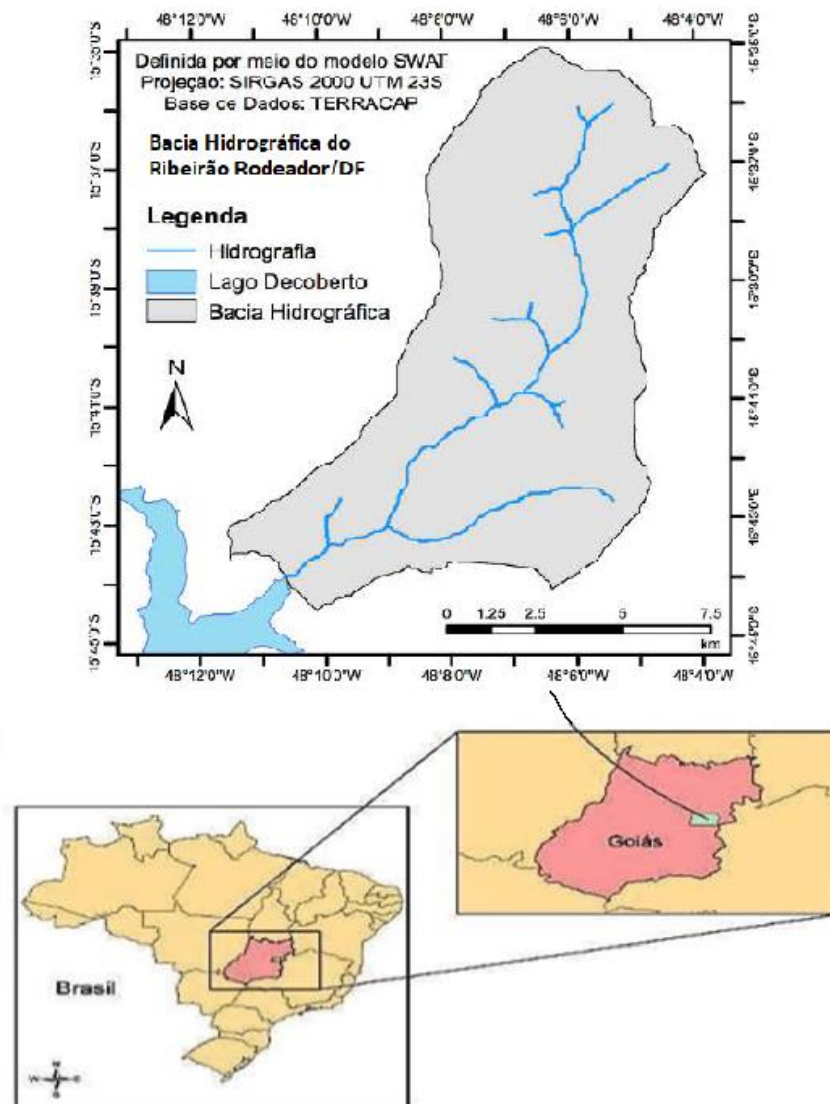


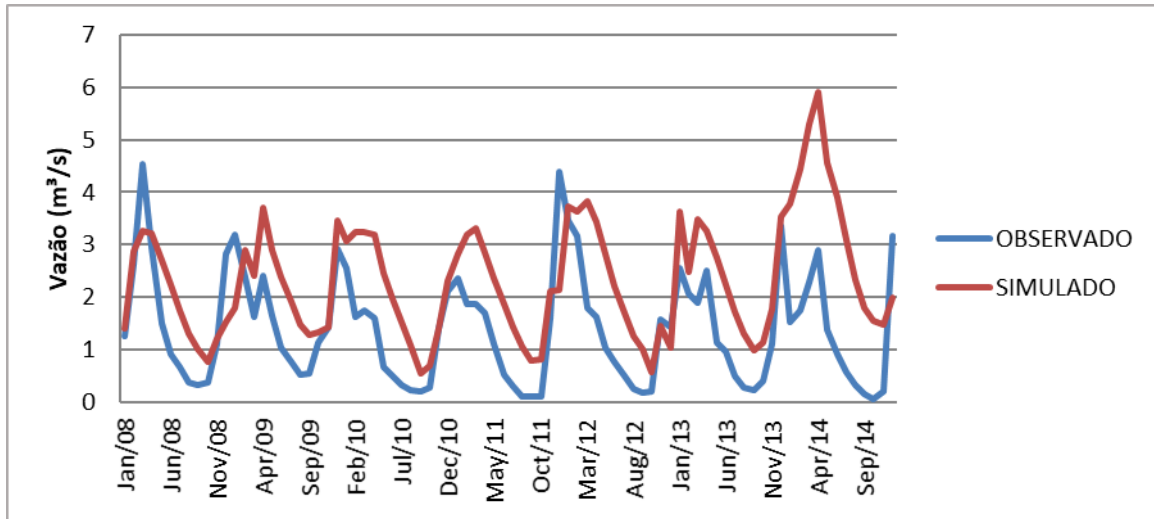
Figura 1. Localização da bacia hidrográfica do ribeirão Rodeador (Distrito Federal).

### 2.2. Dados de entrada e aplicação do Modelo SWAT

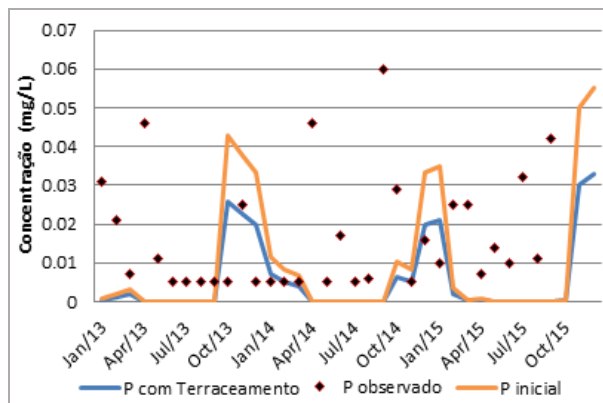
O SWAT (Arnold et al., 1998) é um modelo semi-distribuído que foi primordialmente elaborado para a simulação dos impactos das atividades agrícolas no balanço hídrico terrestre, nas cargas de sedimentos, cargas químicas em bacias hidrográficas em períodos contínuos de tempo. As entradas do modelo consistem em dados topográficos, mapa de solos, propriedades de solos, mapa de uso e ocupação do solo, dados climáticos e práticas de manejo do solo. A base de dados utilizada foi proveniente de Ferrigo (2014). Os dados pluviométricos, referente a 34 anos de medição (1978-2012), medidos diariamente, foram obtidos junto à Companhia de Saneamento Ambiental de Brasília (CAESB). Os dados de temperaturas máximas e mínimas, radiação solar, umidade relativa do ar e velocidade do vento foram coletados na estação de Brasília do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). O modelo SWAT foi aplicado com base na interface ArcSWAT. Os dados relacionados ao uso de fertilizantes na bacia do ribeirão Rodeador foram obtidos junto à Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER). Esses dados são relativos às principais culturas e fertilizantes utilizados pelos produtores rurais da região, de forma que a espacialização e manejo das culturas puderam ser implementadas no modelo, no intuito de gerar resultados mais próximos do real. O modelo foi simulado para 10 anos de dados (2005 a 2014), em passo de tempo mensal, com os três primeiros anos sendo utilizados para aquecimento do modelo.

### 3. Resultados e Discussão

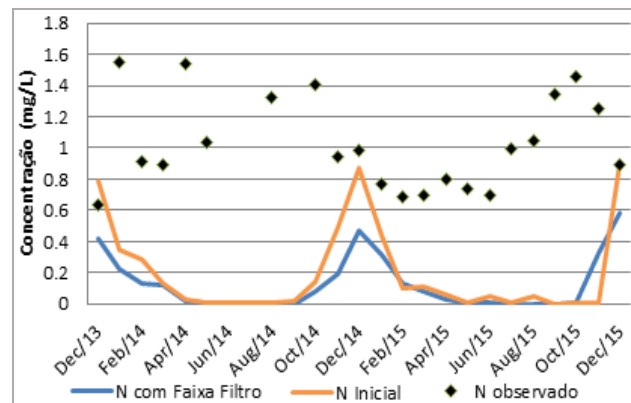
Os resultados obtidos após a calibração do modelo (Figura 2) foram considerados satisfatórios. O coeficiente estatístico NSE atingiu o valor de 0,5, o que, de acordo com Moriasi *et al.* (2007), é classificado como razoável para prosseguir com a avaliação da simulação dos dados de qualidade de água.



(a)



(b)



(c)

Figura 2. Simulação de vazão e da adoção de práticas conservacionistas na bacia hidrográfica do ribeirão Rodeador/DF. (a) Hidrograma observado e simulado. (b) Concentração de fósforo total após inclusão do terraceamento. (c) Concentração de nitrogênio total após inclusão das faixas de proteção dos ambientes aquáticos (Área de Preservação Permanente).

Já os dados relacionados à simulação de cargas de nutrientes, nitrogênio e fósforo, não apresentaram boa aderência, necessitando de aprimoramentos. Ainda assim, foram simulados os resultados com adoção das práticas conservacionistas e o modelo SWAT mostrou-se sensível à adoção das práticas. Os resultados evidenciaram a redução das cargas de poluição de origem difusa pela inserção das práticas na bacia hidrográfica.

### 4. Conclusões

Em função da importância do ribeirão Rodeador/DF como afluente ao Reservatório do Descoberto, principal manancial de Brasília, os resultados da análise realizada mostraram como a adoção de práticas conservacionistas do solo (terraceamento e faixas filtro) nas áreas da bacia

podem auxiliar no processo de controle da poluição difusa afluente ao reservatório. A aplicação da modelagem hidrológica com o SWAT mostrou-se sensível à inclusão das práticas de manejo e o enfoque de estudo pode servir de base para análise e aprimoramento das práticas agrícolas em bacias hidrográficas.

### **Agradecimentos**

À CAESB, EMATER e ao INMET pelos dados fornecidos.

### **Referências**

- ALMEIDA, G. V. B. Características qualitativas de pêssegos produzidos em Paranapanema-SP, safra 2005, e sua valoração no mercado atacadista de São Paulo. 2006. 66 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual Paulista, Unesp, Jaboticabal, 2004.
- ARABI, M. et al. Representation of agricultural conservation practices with SWAT. *Hydrol. Process*, v. 22, n. 16, p.3042-55, 2008.
- ARNOLD, J. G. et al. Large Area Hydrologic Modeling and Assessment: Part I. Model Development. *Journal of the American Water Resources Association*, n. 34, v. 1, p.73-89, 1998.
- CHEN, Y. et al. 2014. Simulating the impact of watershed management for surface water quality protection: A case study on reducing inorganic nitrogen load at a watershed scale. *Ecological Engineering*, v. 62, p.61-70, 2014.
- FERRIGO, S. Análise de consistência dos parâmetros do modelo swat obtidos por calibração automática – estudo de caso da bacia do lago descoberto - DF. 2014. 147 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos), Universidade de Brasília, UnB, Brasília, 2014.
- HAAS et al. Assessing the impacts of Best Management Practices on nitrate pollution in an agricultural dominated lowland catchment considering environmental protection versus economic development. *Journal of Environmental Management*, v. 196, p.347-364, 2017.
- NIRAULA et al. Identifying critical source areas of nonpoint source pollution with SWAT and GWLF. *Ecological Modelling*, v 268, p.123-133, 2013.

**EMPREGO DE TOMÓGRAFO PORTÁTIL DE RAIOS GAMA PARA AVALIAÇÃO DO  
AVANÇO DA FRENTE DE MOLHAMENTO**

P. F. Sousa<sup>1,\*</sup>, J. M. Naime<sup>2</sup>, S. Crestana<sup>2</sup>, A. L. B. Cavalcante<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70910-900, Brasília, Distrito Federal

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: patriciafiguereidodesousa@gmail.com

**Resumo:** A modelagem do comportamento hidráulico de meios porosos não saturados por meio do emprego de soluções analíticas e/ou numéricas da equação de fluxo tem por intuito estimar o movimento de água durante a infiltração imposto por um dado gradiente hidráulico. Neste trabalho tal análise será feita com base na retroanálise de dados presentes na literatura para a variação temporal de teor de umidade volumétrico durante a realização de ensaio de infiltração em coluna de Latossolo Vermelho Distroférico monitorado por tomógrafo de raios gama. A metodologia utilizada nesta pesquisa baseia-se no emprego de uma solução analítica da Equação de Richards para o caso de fluxo vertical em amostra de solo não saturada. Os resultados obtidos mostraram o potencial da solução empregada em estimar o perfil de umidade volumétrico ao longo da coluna ensaiada.

**Palavras-chave:** Solução Analítica da Equação de Richards, Solos Não Saturados, Tomografia, Infiltração.

**USE OF PORTABLE GAMMA-RAY TOMOGRAPHY FOR WETTING FRONT FEED RATE ASSESSMENT**

**Abstract:** The modeling of the hydraulic behavior of unsaturated porous media by the use of analytical and/or numerical solutions of the flow equation aims to estimate the water movement during the infiltration imposed by a given hydraulic gradient. In this work such analysis will be made based on the back-analysis of data present in the literature for the temporal variation of volumetric moisture content during the performance of infiltration test on a Dystrophic Red Latosol monitored by gamma-ray tomography. The methodology used in this research is based on the use of an analytical solution of the Richards equation for the case of vertical flow in unsaturated soil sample. The results showed the potential of the solution employed to estimate the volumetric moisture profile along the rehearsed column.

**Keywords:** Analytical Solution Richards Equation, Unsaturated Soils, Tomography, Infiltration.

**1. Introdução**

O entendimento do movimento de água e solutos na zona não saturada do solo é de grande interesse para as diversas áreas relativas à Ciência do Solo, como Agricultura, Hidrologia e Geotecnia. Conhecer o solo na condição não saturada significa, entre outras coisas, compreender como a presença de água afeta, de forma transiente, as propriedades físicas e hidráulicas do meio.

Dentre as propriedades hidráulicas que se destacam para a compreensão do fluxo de água no solo, pode-se listar: a capacidade de armazenamento de água no solo definida pela função de retenção e a variação da condutividade hidráulica não saturada do meio como as mais importantes.

Geralmente, tais propriedades são aferidas por métodos experimentais que medem o teor de umidade volumétrico e/ou a sucção do solo. Dos diversos procedimentos existentes para medida do teor de umidade volumétrico, ressalta-se a técnica de atenuação de raios gama por não perturbar a estrutura da amostra e por permitir a seleção da seção ou volume do corpo-de-prova a ser estudado, de forma precisa e em poucos minutos (NAIME et al., 2002).



Dentro desta temática, neste trabalho será apresentado uma metodologia para avaliação da função de teor de umidade volumétrico variando no tempo e espaço por meio da retroanálise de dados de ensaio de infiltração em uma coluna de latossolo desestruturado.

## 2. Materiais e Métodos

Os dados a serem utilizados nas análises apresentadas neste documento, diz respeito a medidas da variação do teor de umidade volumétrico ao longo do processo de infiltração, obtidas por tomografias do solo durante a imposição do movimento de água. Esses dados são oriundos de ensaios realizados em tomógrafo portátil de raios gama com fonte radioativa de Amerício-241 e sistema de varredura de 3ª geração. O referido equipamento (Figura 1) foi construído, calibrado e validado por Naime et al. (2001).

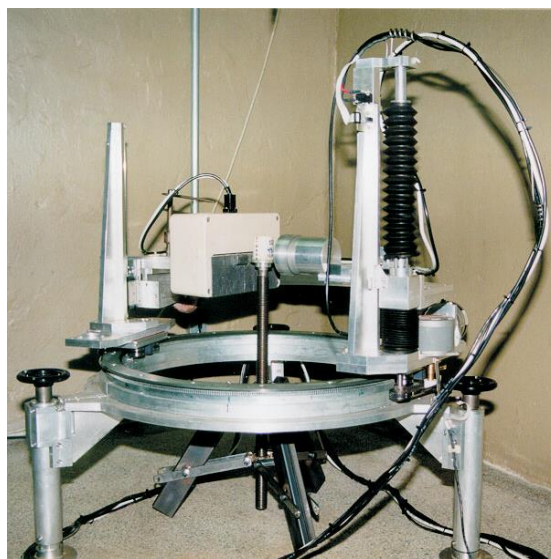


Figura 6. Sistema mecânico de varredura do tomógrafo (Naime et al., 2001).

Em um dos testes realizados no tomógrafo desenvolvido pelo autor citado para avaliar a efetividade do equipamento para medir a umidade, o erro entre a umidade obtida por esse equipamento e pelo método gravimétrico foi de 0,82%, um valor considerado bom para aferição indireta dessa propriedade.

### 2.1. Solo estudado

A amostra de LVdf avaliada é oriunda da Microbacia de Ribeirão Canchim, Fazenda da Embrapa localizada no município de São Carlos, estado de São Paulo. Conforme apresentado por Naime (2001), a textura desse solo é composta de 45% de argila, 13% de silte e 42% de areia. Sendo que, a fração de argila desse solo é constituída de caulinita, mineral 1:1.

Antes da realização do ensaio de infiltração, Naime (2001) preparou o solo coletado, destorroando-o e secando-o em estufa durante 24 horas a 105 °C. Após essa etapa, o solo foi passado em uma peneira de 1 mm, sendo colocado em um tubo de PVC de 40 mm de diâmetro e 150 mm de altura. Mais detalhes sobre o tomógrafo e os procedimentos de ensaio de infiltração podem ser encontrados no texto da tese de Naime (2001).

No gráfico da Figura 2 são apresentados os valores dos teores de umidades volumétricos medidos ao longo do tempo de ensaio uma amostra de Latossolo Vermelho Distroférrico (LVdf), na qual, o acompanhamento do avanço da infiltração foi feito em uma única seção à 93,5 mm do topo da coluna de solo ensaiada. Para realização desses ensaios de infiltração foi imposta uma lâmina d'água constante de 5 mm no topo da amostra. O primeiro ponto do ensaio foi obtido 2 minutos após o início da infiltração. Neste gráfico, o intervalo de conclusão entre uma varredura tomográfica e a posterior é sempre de 4 minutos.



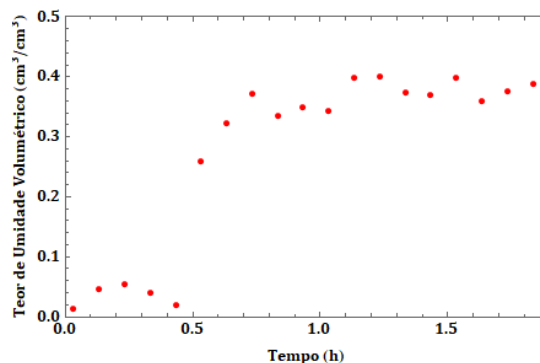


Figura 7. Perfil de umidade durante a infiltração de água a 93,5 mm do topo da amostra.

### 2.2. Descrição do modelo teórico

Para modelar o avanço da frente de molhagem durante a infiltração a partir dos dados experimentais apresentados na Figura 2, foi utilizado uma das soluções analíticas da Equação de Richards que foi proposta por Cavalcante e Zornberg (2017a) para o caso de fluxo de vertical não saturado em coluna de solo, cujo teor de umidade volumétrico se mantém constante no topo da amostra ao longo do tempo de ensaio. A solução apresentada pelos autores citados baseia-se em assumir que os valores de difusividade hidráulica e velocidade advectiva são constantes durante o movimento de água no solo. Isso permite obter uma função para o teor de umidade volumétrico variando no tempo e no espaço. Outros detalhes sobre a solução citada acima podem ser obtidos no trabalho de Cavalcante e Zornberg (2017a) e Cavalcante e Zornberg (2017b).

### 2.3. Realização do ajuste da curva de infiltração

A realização do ajuste da curva de variação temporal do teor de umidade volumétrico pela função apresentada no trabalho de Cavalcante e Zornberg (2017a) para caso 1 aos dados exibidos na Figura 2, foi feito com o auxílio do software *Wolfram Mathematica* utilizando o comando de ajuste *NonlinearFitModel*. Os dados de entrada do modelo foram: posição avaliada sendo igual a seção das leituras realizadas pelo tomógrafo, 0,0935 m, teor de umidade volumétrico aplicado no topo da coluna como sendo igual ao valor do teor de umidade saturado assumido por Naime (2001), 45% com o teor de umidade inicial da coluna assumindo o menor valor de teor de umidade volumétrico medido durante o ensaio, neste caso, para a amostra avaliada igual a 1,4%. A descrição completa dessas etapas pode ser obtida no trabalho de Sousa (2019).

## 3. Resultados e Discussão

Os dados apresentados no gráfico da Figura 2 foram ajustados a solução analítica da Equação de Richards apresentada por Cavalcante e Zornberg (2017) para uma coluna semi-infinita cujo teor de umidade volumétrico no topo é mantido constante durante o ensaio, conforme descrito nas subseções 2.2 e 2.3 desse trabalho. Os valores de difusividade hidráulica, velocidade advectiva, intervalo de confiança (IC), erro padrão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) obtidos do ajuste são descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros obtidos no ajuste dos pontos de variação temporal do teor de umidade.

Parâmetro	Valor obtido	Erro Padrão	IC
Difusividade ( $m^2/h$ )	$11,5 \cdot 10^{-2}$	0,018	$7,7 \cdot 10^{-2}$ - $15,3 \cdot 10^{-2}$
Velocidade advectiva (m/h)	$1,6 \cdot 10^{-1}$	0,009	$1,4 \cdot 10^{-1}$ - $1,8 \cdot 10^{-1}$
$R^2$	0,98		

A curva ajustada aos dados experimentais expostos na Figura 2 é apresentada na Figura 3(a). Nota-se que a solução utilizada se ajustou muito bem aos dados experimentais. Na Figura 3(b) é

plotado o envelope de confiabilidade deste ajuste para um nível de confiança de 95%, junto com a linha média dos parâmetros obtidos diretamente do ajuste do modelo.

O uso do conceito de intervalo de estimativas prováveis vem se tornando cada vez mais comum na engenharia, para o estudo do movimento de água, tal conceito é muito pertinente porque permite traçar, para um nível de confiança desejado, uma zona de comportamento provável da função de teor de umidade volumétrico dependente do tempo, o que permite, mesmo com uma quantidade pequena de amostras, encontrar uma zona que melhor caracterize a população estudada, no caso, o LVdf da região em que amostra foi colhida.

A estimativa do avanço da frente de molhamento com base na função de teor de umidade volumétrico variável no tempo e no espaço obtida pela retroanálise dos dados do ensaio de infiltração para a amostra de LVdf é apresentada nas Figuras 3(c) e 3(d).

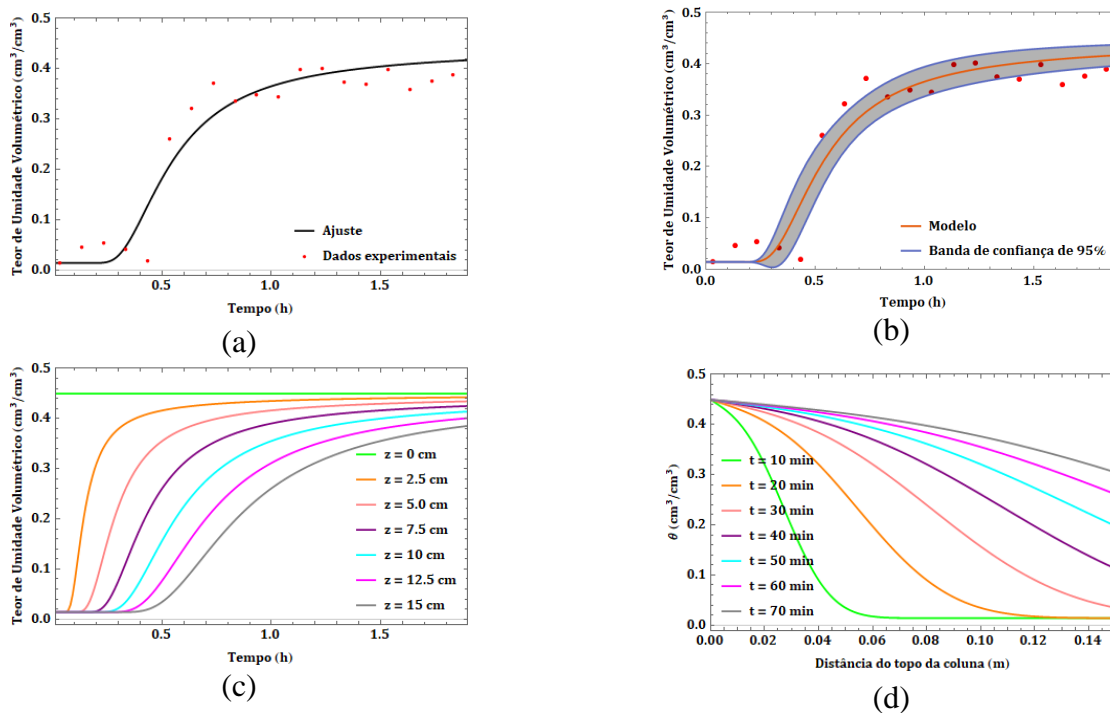


Figura 8. Resultados obtidos pela aplicação do modelo de Cavalcante & Zornberg (2017) aos dados da variação do teor de umidade ao longo do tempo em uma amostra de LVdf. Para: (a) Ajuste do modelo de variação do teor de umidade volumétrico de Cavalcante & Zornberg (2017a), (b) Banda de confiança de 95% para a função ajustada, (c) Perfil de umidade em instantes variados ao longo da coluna de solo e, (d) Estimativa da variação temporal do teor de umidade volumétrico em diferentes seções do corpo-de-prova.

Pela análise do gráfico apresentado na Figura 3(c), pode-se observar que há uma redução no gradiente de umidade com o incremento da profundidade, sendo máximo imediatamente abaixo do topo da coluna ensaiada. Para a amostra analisada, o teor de umidade da base da coluna de solo só começa a sofrer variação do seu valor inicial cerca de 30 minutos após o início do ensaio de infiltração. Neste modelo, o teor de umidade volumétrico se mantém constante no topo da coluna ao longo do ensaio, como também pode ser observado nesta figura através da observação da reta verde. Pela previsão da curva ajustada, ao final das medições do ensaio de infiltração (última leitura realizada), o teor de umidade volumétrico na base da amostra possivelmente é de 38,9%, não atingindo o valor de teor de umidade volumétrico saturado estabelecido para amostra por Naime (2001) – (45%) – o que indica, junto com a análise visual dos pontos do patamar superior da Figura (2), que possivelmente o valor da porosidade da amostra é inferior a este valor. No trabalho de Varandas (2011), o valor desta propriedade para amostras de LVdf de uma área de pastagem, estava entre 41,1 e 42,6%. Neste solo, a baixa capacidade de retenção de água observada pode ser

justificada pela presença do argilomineral caulinita no solo.

Pela análise da Figura 3(d), é possível notar que, ao longo do tempo de ensaio a linha da função de teor de umidade volumétrico vai ficando cada vez mais horizontal, ou seja, o teor de umidade volumétrico vai se tornando mais uniforme ao longo da coluna de solo durante o andamento do ensaio, tendendo para o valor do teor de umidade volumétrico imposto no topo da coluna ensaiada, conforme é esperado pela física do fenômeno estudado.

#### 4. Conclusões

De forma geral, a modelagem do comportamento hidráulico de meios porosos não saturados por meio do emprego de soluções analíticas da equação de fluxo tem por intuito estimar propriedades físicas, mecânicas e hidráulicas de forma simples e precisa com uma menor quantidade de ensaios possíveis, representando uma provável diminuição de custos e tempo nas campanhas de caracterização do meio. Os principais resultados obtidos a partir da aplicação do modelo analítico aos dados experimentais do ensaio de infiltração monitorado por tomografia, permitiram prever as curvas de avanço da frente de umidade, além de aferir a duas importantes propriedades hidráulicas, a velocidade advectiva e a difusividade hidráulica. Variáveis que estão relacionadas, dentre outras coisas, a permeabilidade do solo e a capacidade de retenção do meio, como mostrado por Cavalcante & Zornberg (2017a).

O desenvolvimento deste trabalho teve como intuito principal contribuir com a compreensão e a difusão da aplicabilidade desta importante solução matemática para os estudos relativos a problemas de fluxo na região não saturada do solo.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF), a Embrapa Instrumentação e a Universidade de Brasília (UnB) pelo apoio dado durante a realização da pesquisa que subsidiou a produção deste trabalho.

#### Referências

- CAVALCANTE, A.L.B.; ZORNBERG, J.G. Efficient Approach to Solving Transient Unsaturated Flow Problems. I: Analytical Solutions. *International Journal of Geomechanics*, v. 17(7), p. 04017013. 2017a.
- CAVALCANTE, A.L.B.; ZORNBERG, J.G. Efficient Approach to Solving Transient Unsaturated Flow Problems. II: Numerical Solutions. *International Journal of Geomechanics*, v. 17(7), p. 04017014. 2017b.
- NAIME, J. M. Um novo método para estudos dinâmicos, in situ, da infiltração da água na região não saturada do solo. 2001. 145 p. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Carlos, São Carlos, 2001.
- NAIME, J. M. et al. Tomógrafo de Campo dedicado a estudos de parâmetros físicos da Infiltração da Água no Solo. *Comunicado Técnico – Embrapa*, 2001. v. 42, p. 7, 2001.
- NAIME, J. M. et al. Propriedades Hidráulicas do Solo determinadas através da atenuação de Raios Gama. *Comunicado Técnico – Embrapa*, 2002. v. 48, p. 5, 2002.
- SOUSA, P. F. Determinação das propriedades hidráulicas de solos não saturados a partir de ensaios de infiltração utilizando tomografias de raios gama. 2019. 82 p. Dissertação (Mestrado em Geotecnia) – Universidade de Brasília, Faculdade de Tecnologia, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Brasília, 2019.
- VARANDAS, J. M. M. Avaliação da qualidade física do solo em uma escala de microbacia. 2011. X 88 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, 2011.

**CONSTRUÇÃO E CALIBRAÇÃO DE SENSORES ELETRÔNICOS DE BAIXO CUSTO,  
PARA O MONITORAMENTO DE UMIDADE DO SOLO.**

G. C. Souza<sup>1</sup>, J. S. Souza<sup>2</sup>, L. M. Vellame<sup>1</sup>, F.A.L. Nascimento<sup>1,\*</sup>, N.D. Silva<sup>1</sup>, M.A.C.M. Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Rua Rui Barbosa, 710, 44380-00, Cruz das Almas, Bahia*

<sup>2</sup> *Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano, Rua Waldemar Mascarenhas, 656, 44350-000, Gov. Mangabeira, Bahia*

\* *Autor correspondente, e-mail: airdessonpai@hotmail.com*

**Resumo:** Monitorar a umidade do solo está diretamente relacionado ao manejo eficiente da irrigação, pois conhecendo a umidade existente no solo é possível, aplicar a quantidade de água demandada, reduzindo significativamente o desperdício. O presente trabalho tem como objetivo construir e calibrar sensores eletrônicos artesanais de baixo custo para determinação de umidade em um solo sob diferentes condições de condutividade elétrica. A construção e calibração das sondas eletrônicas foram conduzidas no Laboratório de Instrumentação do Núcleo de Engenharia, Água e Solo da UFRB, Campus Cruz das Almas-BA. Foram construídas quinze sondas eletrônicas de baixo custo para medição da umidade do solo. Esses instrumentos foram compostos por: 01 arduino promini; 01 adaptador USB-TTL; 01 circuito integrado 555; 02 resistores de 220 Ohms e 03 capacitores (dois de 1 $\mu$ F e um de 10 $\mu$ F). Os sensores eletrônicos de baixo custo podem ser usados, com boa medição em condições de solos argilosos que contenham a condutividade elétrica variando de 0 a 2 dS m<sup>-1</sup>. Acima de 2 dS m<sup>-1</sup> os sensores apresentam mal funcionamento informando valores imprecisos e inviabilizando o uso nessa faixa.

**Palavras-chave:** conteúdo de água no solo, sensoriamento da umidade, manejo da irrigação.

**CONSTRUCTION AND CALIBRATION OF LOW COST ELECTRONIC SENSORS FOR SOIL  
MOISTURE MONITORING.**

**Abstract:** Monitoring soil moisture is directly related to efficient irrigation management, as knowing the soil moisture it is possible to apply the required amount of water at the right time, significantly reducing waste. The present work aims to construct and calibrate low cost artisanal electronic sensors for moisture determination of one submitted to different conditions of electrical conductivity. The construction and calibration of the electronic probes were conducted at the Instrumentation Laboratory of the Engineering, Water and Soil Nucleus of UFRB, Campus Cruz das Almas-BA. Fifteen low cost electronic probes were built to measure soil moisture. These instruments were composed by: 01 arduino promini; 01 USB-TTL adapter; 01 integrated circuit 555; 02 220 Ohm resistors and 03 capacitors (two 1 $\mu$ F and one 10 $\mu$ F). The low-cost electronic sensors can be used with good measurement in clayey soil conditions containing electric conductivity ranging from 0 to 2 dS m<sup>-1</sup>. Above 2 dS m<sup>-1</sup> the sensors malfunction informing inaccurate values making it impossible to use in this range.

**Keywords:** soil water content, moisture sensing, irrigation management.

**1. Introdução**

Monitorar a umidade do solo está diretamente relacionado ao manejo eficiente da irrigação, pois conhecendo a umidade existente no solo é possível, aplicar a quantidade de água demandada, reduzindo significativamente o desperdício. Dos diferentes métodos utilizados para monitorar a umidade do solo, e dentre suas vantagens e desvantagens o uso de sensores eletrônicos vem sendo amplamente difundido nas estimativas de umidade. Os sensores eletrônicos apresentam as

características de ser: um método não destrutivo, as sondas possuem vida útil longa em contato com o solo, fornecem leituras contínuas, e tornam possíveis medidas próximas a superfície do solo (CRUZ et al., 2010; SOUZA et al., 2016; GARDNER et al., 1991).

Entretanto por ser um método indireto, o uso dos sensores eletrônicos requer calibração específica para cada solo que será monitorado, essa calibração pode ser realizada em laboratório, conforme Gardner (1998) e é imprescindível que, para que cada sonda possa representar com precisão o conteúdo de água, seja realizada a calibração individualmente. Portanto, o presente trabalho tem como objetivo construir e calibrar sensores eletrônicos artesanais de baixo custo para determinação de umidade de um submetido a diferentes condições de condutividade elétrica.

## 2. Materiais e Métodos

A construção e calibração dos sensores foram realizadas no laboratório de instrumentação agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia UFRB. Foram construídas quinze sondas eletrônicas de baixo custo para medição da umidade do solo. Esses instrumentos foram compostos por: 01 arduino promini; 01 adaptador USB-TTL; 01 circuito integrado 555; 02 resistores de 220 Ohms e 03 capacitores (dois de 1 $\mu$ F e um de 10 $\mu$ F). Os detalhes da construção e do funcionamento segue o descrito por Vellame et al., 2019.

Para ponta de prova dos sensores foram utilizadas três hastes de aço inoxidável medindo 0,12 m de comprimento e 0,003 m de espessura. Os componentes eletrônicos após montados foram encapsulados com resina epóxi e o comprimento útil das hastes adotado foi de 0,10 m de comprimento.

Após a construção foi iniciado o procedimento de calibração de cada sensor. O solo utilizado para calibração foi coletado na Fazenda experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Após a coleta, o solo seco ao ar e em seguida peneirado em malha de 2 mm, compondo amostras deformadas.

O solo foi acondicionado em tubos de PVC de 0,014 m de altura e 0,75 m de diâmetro. No fundo de cada tubo foi inserido uma tela de malha fina. Em seguida os tubos preenchidos com o solo e já com as sondas inseridas foram submetidas a saturação em uma solução de NaCl, por um período de 24 horas.

As soluções utilizadas para saturação do solo foram preparadas com as condutividades elétricas (CE) iguais a: 0; 2;5;8 e 11 dS m<sup>-1</sup>.

Ao fim da saturação, retirou-se os monólitos (tubo + solo saturado+ sonda), da solução e com auxílio de uma balança de precisão, foram medidas a suas respectivas massas. Com auxílio da IDE do Arduino foram aferidos os valores de frequência em cada sonda previamente programada. Essas aferições foram realizadas continuamente até os solos dos monólitos atingirem umidade residual.

Depois da última tomada de valores foram retiradas as sondas, e o solo com o tubo foi colocado em uma estufa de circulação forçada a temperatura de 75 °C, por um período de 24 horas, para se conhecer ao fim a massa do solo seco (MSS).

Foi tomada separadamente a massa do tubo e a massa da sonda para se conhecer a massa do solo (MS) para cada aferição realizada, conforme a equação 1.

$$MS = M_{total} - \text{Massa do tubo} - \text{Massa da sonda} \quad (1)$$

em que:  $M_{total}$  - é a massa do solo junto com a massa da sonda e do tubo (g).

Conhecendo MS em cada aferição e o MSS, foi determinado a umidade do solo ( $\theta$ ) em cada aferição, com o uso da equação 2.

$$\theta = \frac{(MS - MSS)}{MSS} \quad (2)$$

em que:  $\theta$  - Umidade do solo (cm<sup>3</sup> cm<sup>-3</sup>).

Conhecendo a umidade do solo foi correlacionado os valores de umidade do solo com a frequência relativa, assim podendo conhecer o modelo matemático que explica a relação entre essas duas variáveis.

### 3. Resultados e Discussão

Na figura 1 são apresentadas as correlações entre a frequência relativa e a umidade dos solos tratados com a solução de 0 e 2 dS m<sup>-1</sup>. É possível afirmar que os sensores artesanais apresentam boa medição da umidade do solo em condições que a salinidade é zero. Para o solo em questão a faixa de medição fica em torno de 0,1 a 0,5 cm<sup>3</sup> cm<sup>-3</sup>. Já na condição em que foi utilizado 2 dS m<sup>-1</sup> os sensores artesanais apresentam boa correlação porem conseguem medir no máximo até 0,45 cm<sup>3</sup> cm<sup>-3</sup>.

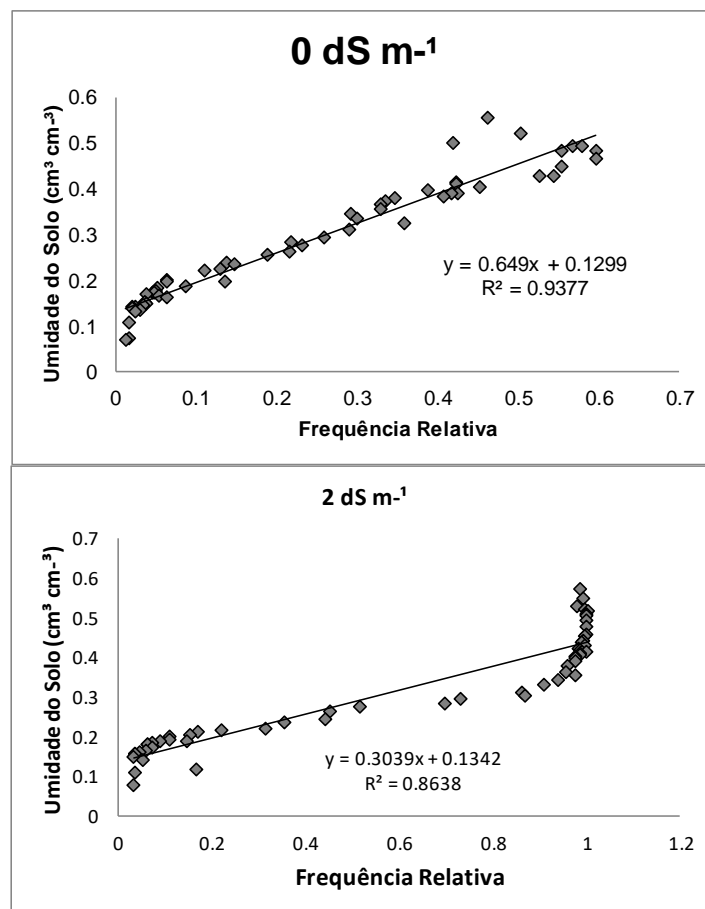


Figura 1. Calibração dos sensores do conteúdo de água no solo preparado com a solução de 0 e 2 dS.m<sup>-2</sup>.

Cruz et al (2010) trabalhando com sensores capacitivos artesanais encontraram uma faixa de operação entre 0,05 a 0,27 cm<sup>3</sup> cm<sup>-3</sup> e um coeficiente de determinação igual a 0,98, para solos arenosos. Embora os resultados dos autores sejam significantes, deixaram de observar a influência da salinidade do meio. Assim como as sondas construídas pelos autores supracitados, recomenda-se os sensores para manejo da irrigação operando em solo argiloso CE entre 0 e 2 dS. m<sup>-1</sup>

A figura 2 apresenta as correlações entre a frequência relativa e a umidade dos sensores para as sondas calibradas nas condições de 5 a 11 dS m<sup>-1</sup>. É possível inferir que a partir de 5 dS m<sup>-1</sup> as sondas eletrônicas começam a não aferir resultados confiáveis, mostrando que a frequência relativa está sempre próximo de 1, e especificamente, em 5 dS a alteração da frequência não adiciona alteração na estimativa de umidade, ficando os valores sempre próximo de 0,2 cm<sup>3</sup> cm<sup>-3</sup>.

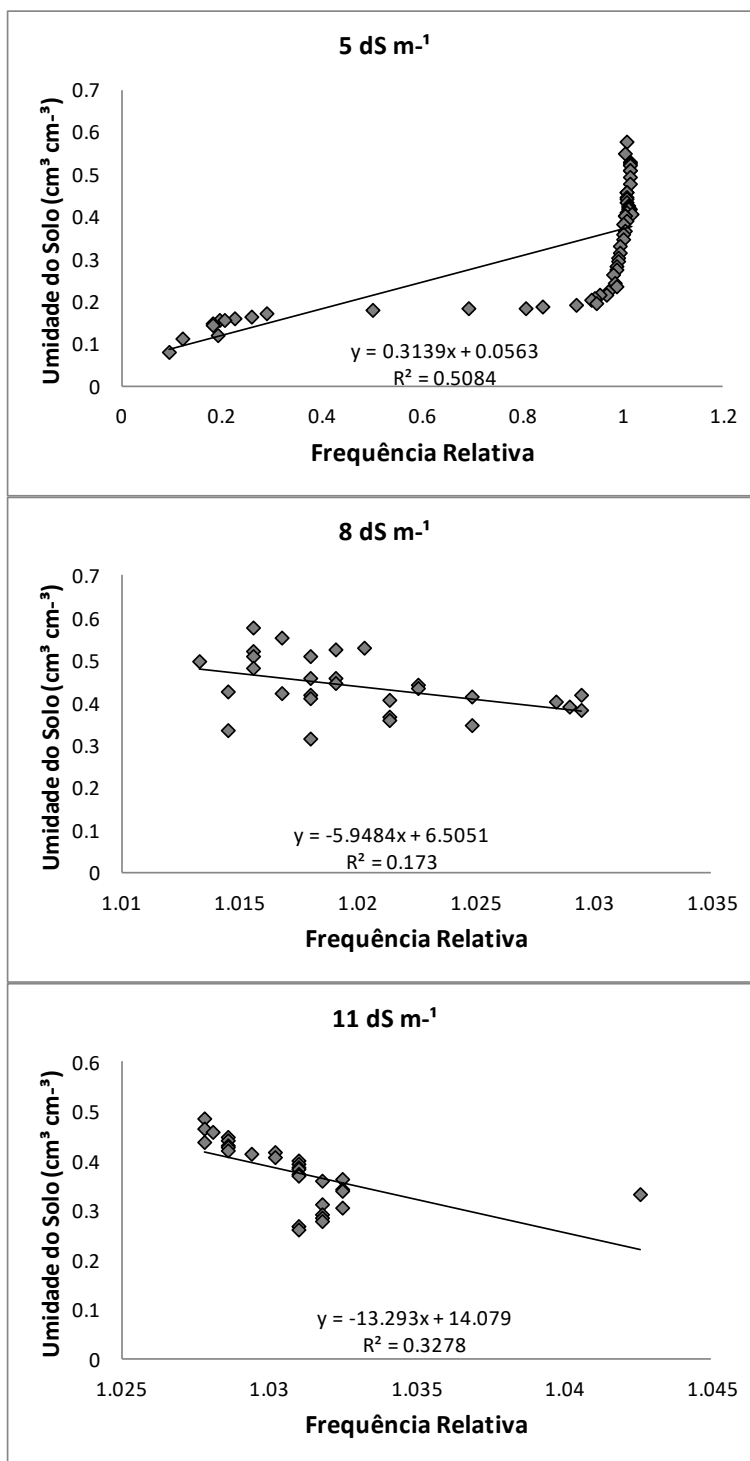


Figura 2. Calibração do sensor para o solo preparado com a solução de 5 a 11 dS.m<sup>-1</sup>

#### 4. Conclusões

Os sensores eletrônicos de baixo custo podem ser usados, com boa medição em condições de solos argilosos que contenham a condutividade elétrica variando de 0 a 2 dS m<sup>-1</sup>. Acima de 2 dS m<sup>-1</sup> os sensores apresentam mal funcionamento informando valores imprecisos e inviabilizando o uso nessa faixa

#### Agradecimentos

Agradecemos ao órgão de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de auxílio formação. Também gostaríamos de agradecer a Fundação de

Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo financiamento para instalação e manutenção do estudo.

### **Referências**

- PALTINEANU, I. C.; STARR, Y. J. L. Real-time soil water dynamics using multisensory capacitance probes: Laboratory Calibration. *Soil Science Society of America Journal*, v. 61, p. 1576-1585, 1997.
- CRUZ, T. M., TEIXEIRA, A. D. S., CANAFÍSTULA, F. J., SANTOS, C. C., OLIVEIRA, A. D. D. U., & DAHER, S. Avaliação de sensor capacitivo para o monitoramento do teor de água do solo. *Engenharia Agrícola*, 2010.
- SOUZA, C. F.; DA SILVA, C. R.; DE ANDRADE JÚNIOR, A. S.; COELHO, E. F. Monitoramento do teor de água no solo em tempo real com as técnicas de TDR e FDR. *Irriga*, Botucatu, v. 1, n. 1, p. 26-42, 2016.
- GARDNER, C. M. K.; BELL, J. P.; COOPER, J. D.; DEAN, T. J.; HODNETT, M. G.; GARDNER, N. Soil water content. In: SMITH, R. A.; MULLINGS, C. E. (Ed.). **Soil analysis: physical methods**. New York: Marcel Dekker, 1991. cap. 1, p. 1-73.
- GARDNER, C.M.K.; DEAN, T.J.; COOPER, J.D. Soil water content measurement with a highfrequency capacitance sensor. *Journal of Agricultural Engineering Research*, Silsoe, v.71, n.4, p.395-403, 1998.
- VELLAME, L.M; SILVA, N.D; NASCIMENTO, F.A.L. **Instrumentação agrícola: construção de sonda eletrônica de umidade do solo**. Cruz das Almas, BA, 2019, 12 p. ISBN 978-65-900863-0-3



**AValiação da Qualidade da Matéria Orgânica dos Solos Extraídos  
de Três Variações de Sistemas Integrados no Estado de São Paulo**

A. M. Tadini<sup>1,\*</sup>, A. A. P. Xavier<sup>1,2</sup>, M. A. R. Carvalho<sup>1,3</sup>, L. Martin-Neto<sup>1</sup>, D. M.B.P. Milori<sup>1</sup>; A. C. C. Bernardi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> IQSC-USP, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> UFSCar, São Carlos, São Paulo

<sup>4</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luiz, Km 234 - Fazenda Canchim, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: amandatadini@hotmail.com

**Resumo:** A matéria orgânica do solo (MOS) é considerada um indicador relevante da qualidade do solo, devido à sua relação direta com as propriedades biológicas, químicas e físicas, permitindo avaliar os impactos do manejo agrícola. Solos sob Sistemas Integrados Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF) e suas diferentes variações como Lavoura-Pecuária (ILP) e Pecuária-Floresta (IPF), têm o potencial de capturar e sequestrar carbono, na forma de aumentar a quantidade de MOS, contribuindo na mitigação das emissões de gases causadores do efeito estufa na agricultura. Técnicas fotônicas, como a Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (LIFS) tem se tornado uma análise promissora na avaliação do índice de humificação da MOS ( $H_{LIFS}$ ) em solos agrícolas. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade química da MOS em três variações de sistemas integrados. Os resultados mostraram um acúmulo médio de carbono e estruturas aromáticas nos três sistemas integrados com a profundidade. De modo geral, obteve-se a seguinte ordem decrescente de humificação e teor de carbono entre os sistemas:  $IPF \geq ILPF > ILP > Floresta Nativa (FN)$ . Assim, após 5 anos de experimento em campo houve aumento no conteúdo da MOS em áreas sob sistemas integrados e aumento de estabilidade química comparado com FN.

**Palavras-chave:** Intensificação Sustentável; Matéria Orgânica do Solo; Acúmulo de Carbono; Fluorescência Induzida por Laser;

**QUALITY ASSESSMENT OF SOIL ORGANIC MATTER FROM THREE VARIATIONS OF INTEGRATION SYSTEMS IN SÃO PAULO STATE**

**Abstract:** Soil organic matter (SOM) is considered a relevant indicator of soil quality, due to its direct relationship with biological, chemical and physical properties, allowing to evaluate the impacts of agricultural management. Soils under Crop-Livestock-Forest Integrated Systems (CLFS) and their different variations as Crop-Livestock (CLS) and Forest-Livestock (FLS) have the potential to capture and sequester carbon in order to increase the amount of MOS, contributing mitigation of greenhouse gas emissions in agriculture. Photonic techniques such as Laser Induced Fluorescence Spectroscopy (LIFS) have become a promising analysis in the evaluation of the SOM Humidity Index ( $H_{LIFS}$ ) in agricultural soils. In this context, the objective of this study was to evaluate the chemical stability of SOM in three variations of integrated systems. The results showed an average carbon accumulation and aromatic structures in the three depth integrated systems. In general, the following decreasing order of humification and carbon content was obtained between the systems:  $FLS \geq CLFS > CLS > Native Forest (NF)$ . Thus, after 5 years of field experiment there was increased SOM content in areas under integrated systems and increased chemical stability compared to NF.

**Keywords:** Sustainable Intensification; Soil Organic Matter; Carbon Accumulation; Laser Induced Fluorescence;

## 1. Introdução

A matéria orgânica do solo (MOS) atua na ciclagem de nutrientes, retenção de água, controle térmico, dentre outros fatores. Estudos que visam avaliar as características estruturais e seu comportamento são fundamentais para compreender os processos geoquímicos, de formação e fertilidade dos solos. Assim, mudanças nos estoques de carbono presente nesses solos agrícolas podem desempenhar um importante papel nas variações do ciclo de carbono global, bem como o aumento ou diminuição de níveis de CO<sub>2</sub> atmosférico. A possibilidade de aumentar o conteúdo de matéria orgânica no solo, e consequentemente sequestrar carbono no solo, é uma das importantes estratégias globais para descarbonização da economia (CERRI et al. 2016; SEBEN JUNIOR et al. 2016; MINASNY et al. 2017; SÁ et al., 2017).

O sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) destaca-se principalmente no âmbito de agricultura de baixa emissão de carbono no Brasil, uma vez que os solos integrados a esse sistema podem ser capazes de captar e estocar carbono na MOS, contribuindo para diminuição dos gases responsáveis pelo efeito estufa (LOPES, 2017; SÁ et al., 2017; VIGAN et al. 2017). Os solos da América do Sul contêm 10,3% de C até 1 metro de profundidade, representando 160 Pg de C do estoque de carbono orgânico dos solos mundiais. A produção de carbono na América do Sul representa 2,5% das emissões globais, correspondendo a 9,8 Pg de C, e contribuindo com 31,3% da emissão anual global dos gases de efeito estufa (SÁ et al. 2017). Desta forma, a América do Sul, especialmente o Brasil tem um grande potencial de auxiliar em práticas capazes de mitigar as emissões de gases causadores do efeito estufa por meio de adoção de práticas de agricultura de baixo carbono.

Indicadores de qualidade do solo, como a matéria orgânica são ferramentas importantes em estudos nesses sistemas integrados, pois o conhecimento da composição química e molecular dessa matéria orgânica, bem como do carbono presente em sua estrutura podem viabilizar no aprimoramento de técnicas agrícolas mais sustentáveis e de menor impacto nas propriedades do solo. O processo de humificação em solos ocorre com a estabilização da matéria orgânica, os quais podem ocorrer à inserção de compostos mais recalcitrantes, tais como lignina, compostos fenólicos e componentes alifáticos resistentes, pode também incorporar fragmentos moleculares menores provenientes de uma matéria orgânica mais lábil devido à atividade microbiana no meio (SENESI et al. 2016). Desta forma, os índices de humificação mais baixos medidos para a MOS nos horizontes de superfície podem ser atribuídos à presença de matéria orgânica mais lábil, isto é, derivados de plantas e/ou compostos não-húmicos originados pela ação recente de microorganismos, os quais serão degradados com o aumento da profundidade tornando-se estruturas mais conjugadas e de difícil decomposição (BAYER et al., 2002; SENESI et al., 2016).

O uso de técnicas fotônicas como a Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (LIFS) vem se destacando como uma técnica ambientalmente sustentável que permite avaliar a qualidade e estabilidade da MOS com maior facilidade, rapidez e sustentabilidade de análise que os métodos convencionais disponíveis. Desta forma esse estudo destaca-se como sendo o pioneiro em aplicar essa técnica em solos sob sistemas integrados. Frente ao exposto, o objetivo do trabalho foi analisar a qualidade da matéria orgânica presente em sistemas integrados de produção tais como Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF), Pecuária-Floresta (IPF) e Lavoura-Pecuária (ILP) utilizando a Fluorescência Induzida por Laser.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Descrição da área experimental

A área Experimental pertence à Embrapa Pecuária Sudeste – São Carlos, em área de 30 ha de um Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico textura média/argilosa (CALDERANO FILHO et al., 1998), com teor médio de argila de 300 g kg<sup>-1</sup> para todas as áreas avaliadas nesse trabalho. O clima é do tipo Tropical de Altitude (Cwa), de acordo com a classificação de Köppen, com duas estações do ano bem definidas: estação seca, de abril a setembro, que apresenta temperatura média de 19,9°C e 250 mm de chuva e estação chuvosa, de outubro a março, com temperatura média anual é de 23°C e

1.100 mm de chuva. Os solos foram incluídos nos sistemas de Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF), Pecuária-Floresta (IPF) e Lavoura-Pecuária (ILP), após 5 anos da implantação. Além disso, uma reserva de Floresta Nativa (FN) de 120 ha também localizados na área experimental da Embrapa Pecuária Sudeste foi avaliada para fins comparativos. As amostras foram coletadas nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm a diferentes distâncias das linhas das árvores: 0,0m, 1,5m, 3,0m e 7,5m para os sistemas IPF e ILPF.

## 2.2. Análise Elementar

A composição elementar das amostras de todo o solo foi obtida para Bernardi e co-autores (2017) utilizando um analisador elementar (Perkin Elmer, modelo 2400).

## 2.3. Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (LIFS)

As amostras de solo foram secas em estufa a 35 °C com circulação de ar e renovação, trituradas e peneiradas a <0,250 mm (60 mesh) antes das análises por espectroscopia de fluorescência induzida por laser (LIFS) e pastilhas de todas as amostras de solo foram preparadas para análise. Os espectros de LIFS foram adquiridos com a aplicação de um laser de ondas contínuas (potência de 20 mW) a 405 nm. O comprimento de onda de emissão utilizado variou de 465 nm a 800 nm, a intensidade máxima de emissão foi de 1.000 contagens e o tempo de integração selecionado, média e ajustes de boxcar foram 800 ms, 3 e 5, respectivamente, para todas as medidas (TADINI et al. 2018). Quatro réplicas foram registradas para cada amostra e o espectro médio final foi usado para calcular os valores de  $H_{LIFS}$  como a razão entre a área do espectro de emissão de fluorescência na faixa de 420-800 nm e a quantidade de carbono (% C) no solo amostra (MILORI et al., 2006).

## 3. Resultados e Discussão

O LIFS foi aplicado nas amostras de solos inteiro e os espectros obtidos estão exibidos na Figura 1 para os sistemas ILPF, IPF, ILP e Mata Nativa na distância zero para camada 0-5cm (a) e 80-100cm (b).

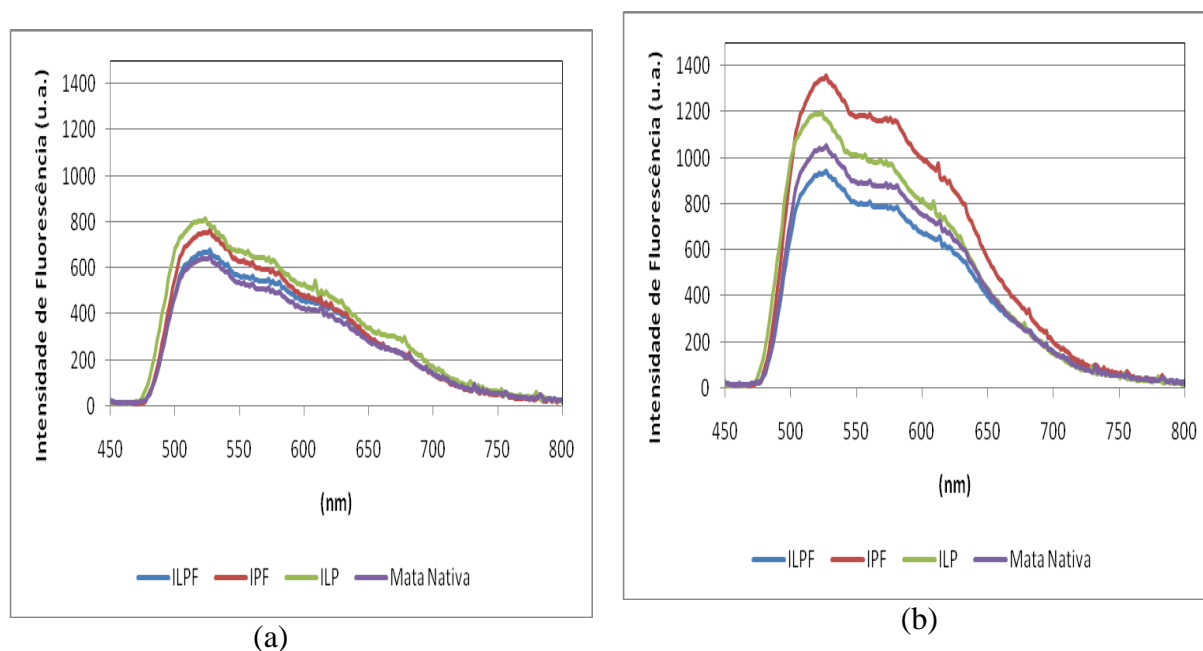


Figura 1. Espectro de Emissão em 405 nm obtido pelo LIFS para as amostras ILPF, IPF, ILP e Mata Nativa nas camadas 0-5cm (a) e 80-100cm (b) na distância entre as linhas das árvores de zero nos sistemas ILPF e IPF.

Os espectros de emissão para os solos empregados nesse estudo mostram uma banda larga com uma intensidade máxima de 525-550 nm, com ombros entorno de 570 e 620 nm, e são semelhantes aos relatados na literatura para MOS (MILORI et al., 2006; TIVET et al., 2013; SANTOS et al., 2015; SENESI et al., 2016) conforme observado na Figura 1. Essa região de comprimentos de onda de 525-550 nm sugere a presença relevante de componentes moleculares caracterizados por uma estrutura aromática resistente de policondensado com um elevado grau de conjugação e podem transportar substituintes, como grupos carbonilas e carboxílicos. Os resultados apresentados nesse trabalho corroboram com estudos descritos por González-PÉREZ et al. (2007) que mostraram que a acumulação de mais aromáticos e humificados conjugados da MOS ocorre nos horizontes mais profundos dos solos sob plantio direto e vegetação nativa, enquanto que a humificação da MOS é menor nos horizontes superficiais.

A Figura 2 apresenta o histograma com os valores de humificação com o decorrer da profundidade para os sistemas integrados e mata nativa, o qual foram maiores para as camadas mais profundas.

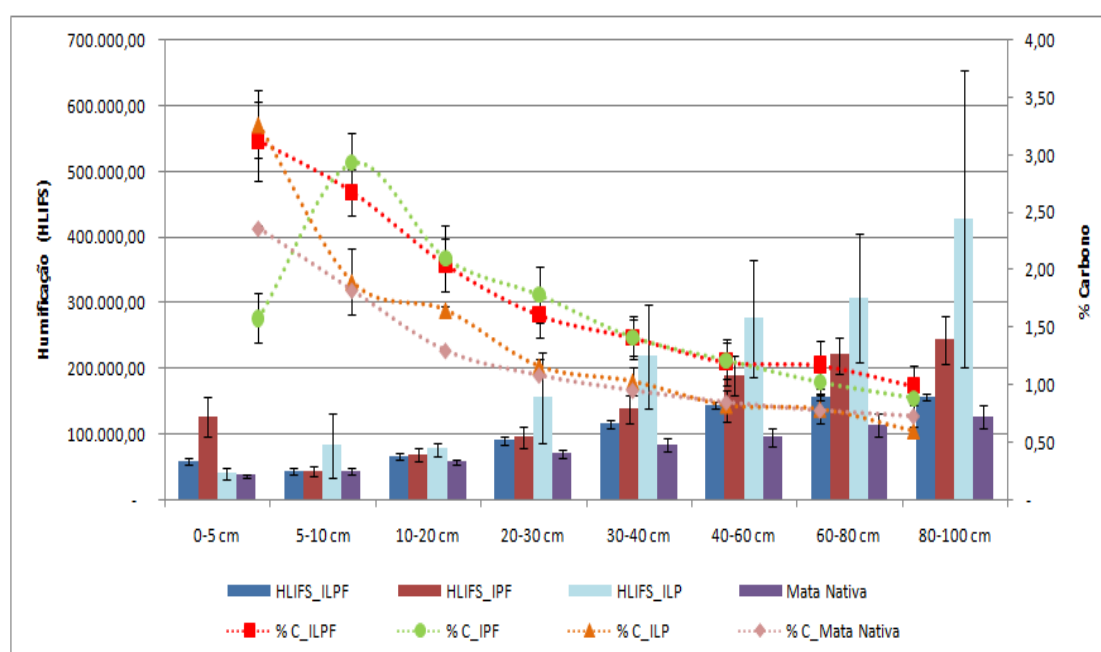


Figura 2. Histograma dos valores de HLIFS e % Carbono nos sistemas integrados com o decorrer da profundidade.

Conforme observado na Figura 2, os resultados mostraram um acúmulo médio de carbono e estruturas aromáticas relacionados aos maiores valores de humificação obtido pelo LIFS nos três sistemas integrados com a profundidade. Assim, pode-se definir uma ordem decrescente de humificação ( $H_{LIFS}$ ) e teor de carbono entre os sistemas:  $IPF \geq ILPF > ILP > Floresta Nativa (FN)$ .

#### 4. Conclusões

Conclui-se que esses sistemas integrados têm potencial de sequestrar carbono, e essa matéria orgânica está mais estável no solo conforme observado com o aumento do índice de humificação ( $H_{LIFS}$ ) determinado pela técnica LIFS. Assim, permitindo inferir que o sistema Integrado Lavoura-Pecuária-Floresta pode ser uma prática agrícola promissora e sustentável para a descarbonização da agropecuária no Brasil.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, 2017/22950-1 e 2017/20084-5). Agradecemos também à Embrapa Instrumentação Agropecuária pelo apoio ao desenvolvimento da pesquisa.

**Referências**

- BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; MARTIN-NETO, L. & HERNÁN, P.R. Stocks and humification degree of organic matter fractions as affected by no-tillage on a subtropical soil. *Plant Soil*, 238:133-140, 2002.
- BERNARDI, A.C.C.; et al. *Advances in Animal Biosciences: Precision Agriculture (ECPA)*, 8:2, 590-593, 2017.
- CALDERANO FILHO, B.; SANTOS, H. G. dos; FONSECA, O. O. M.da; SANTOS, R. D.dos; PRIMAVESI, O.; PRIMAVESI, A. C. Os solos da Fazenda Canchim, Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste, São Carlos, SP: Levantamento semi detalhado, propriedades e potenciais. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS / São Carlos: EMBRAPA-CPPSE, 1998. 95p.
- Cerri CC, Moreira CS, Alves PA, Raucci GS, Castiglioni BA, Mello FFC et al. Assessing the carbon footprint of beef cattle in Brazil: a case study with 22 farms in the State of Mato Grosso. *Journal of Cleaner Production*, 2016.
- GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; MILORI, D.M.B.P.; COLNAGO, L.A.; MARTIN-NETO, L.; MELO, W.J.A. Laser-induced fluorescence spectroscopic study of organic matter in a Brazilian Oxisol under different tillage systems. *Geoderma*, v. 138, p. 20-24, 2007.
- LOPES, M.A. Escolhas estratégicas para o agronegócio brasileiro. *Revista Política Agrícola*, XXVI, nº 1, 2017.
- MILORI, D.M.B.P.; GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; SALTON, J.; DIECKOW, J.; MARTIN-NETO, L.; BAYER, C.; GALETI, H.V. Organic matter study of whole soil samples using laser-induced fluorescence spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal*, v. 70, p. 57-63, 2006.
- MINASNY, B.; et al. Soil carbon 4 per mille. *Geoderma*, 292, 59-86, 2017.
- SÁ, J.C.M.; LAL, R.; CERRI, C.C.; LORENZ, K.; HUNGRIA, M.; FACCIO CARVALHO, P.C. Low-carbon agriculture in South America to mitigate global climate change and advance food security. *Environment International*, 98, 102-112, 2017
- SALTON, J.C.; MERCANTE, F.M.; TOMAZI, M.; ZANATTA, J.A.; CONCENCO, G.; SILVA, W. M.; RETORE, M. Integrated crop-livestock system in tropical Brazil: Toward a sustainable production system. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 190, p. 70-79, 2014.
- SANTOS, C.H.; ROMANO, R.A.; NICOLODELLI, G.; CARVALHO, C.M.; VILLAS-BOAS, P.R.; MARTIN-NETO, L.; MONTES, C.R.; MELFI, A.J.; MILORI, D.M.B.P. Performance Evaluation of a Portable Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy System for the Assessment of the Humification Degree of the Soil Organic Matter. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v. 26, p. 775-783, 2015.
- SEBEN JUNIOR, G. F.; CORÁ, J. E.; LAL, R. Soil aggregation according to the dynamics of carbon and nitrogen in soil under different cropping systems. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 51, n. 9, p. 1652-1659, 2016.
- SENESI, G.S.; MARTIN-NETO, L.; VILLAS-BOAS, P.R.; NICOLODELLI, G. MILORI, D.M.B.P. Laser-based spectroscopic methods to evaluate the humification degree of soil organic matter in whole soils: a review. *Journal of Soils and Sediments*, p. 1-11, 2016.
- TADINI, A. M. et al. Soil organic matter in podzol horizons of the Amazon region: Humification, recalcitrance, and dating. *Science of the Total Environment*, v. 613-614, p. 160-167, 2018.
- TIVET, F.; SÁ, M.J.C.; LAL, R.; MILORI, D.M.B.P.; BRIEDIS, C.; LETOURMY, P.; PINHEIRO, L. A.; BORSZOWSKI, P.R.; HARTMAN, D.C. Assessing humification and organic C compounds by laser-induced fluorescence and FTIR spectroscopies under conventional and no-till management in Brazilian Oxisols. *Geoderma*, v. 207/208, p. 71-81, 2013.
- VIGAN A., LASSEUR J., BENOÎT M., MOUILLOT F., EUGÈNE M., MANSARD L., VIGNE M., LECOMTE P., DUTILLY C. Evaluating livestock mobility as a strategy for climate change mitigation: Combining models to address the specificities of pastoral systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 242, 89-101, 2017.

**CARACTERIZAÇÃO DIRETA DA MATÉRIA ORGÂNICA EM SOLOS E SEDIMENTOS  
POR MICROSCOPIA CONFOCAL E IMAGEM DE TEMPO DE VIDA**

A. Tadini<sup>1</sup>, C.P. Morais<sup>1</sup>, A. C. C. Bernardi<sup>2</sup>, M. Falvo<sup>4</sup>, O. M. Bruno<sup>4</sup>, S. Mounier<sup>3</sup>, L. Martin Neto<sup>1</sup>, D.M.B.P. Milori<sup>1</sup>, F.E.G. Guimarães<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brazil*

<sup>2</sup> *Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, Brazil*

<sup>3</sup> *Université de Toulon, Laboratoire PROTEE, CS 60584, 83041 Toulon CEDEX 9, França*

<sup>4</sup> *Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, CEP13566-590, São Carlos, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: guimarães@ifsc.usp.br*

**Resumo:** A presente contribuição pretende mostrar que Microscopia Confocal (MC) por varredura pode ser usada como técnica de fluorescência não destrutiva capaz de caracterizar a matéria orgânica (MO) diretamente em solos e em sedimentos sem a preparação prévia das amostras e o uso de extração ou fracionamento químico de seus componentes. Imagens espectrais e de tempo de vida de solos e sedimentos em meio aquoso (pH~7) revelam que a MO se encontra na forma de agregado molecular interagindo com a fração mineral, o que garante alto contraste espectral e de tempo de vida dos particulados minerais. Além disso, o uso de excitação por dois fótons no infravermelho se mostrou adequado para a excitação seletiva desses estados moleculares agregados. Os resultados sugerem que a migração seguida de relaxação energética do estado excitado ao longo da densidade de estados agregados são responsáveis pelos deslocamentos espectrais e mudanças do tempo de vida da fluorescência que dependem da concentração da MO dadas pela porcentagem de carbono total (%C) nos solos. Estas características da microscopia confocal, juntamente com processos fotofísicos produzidos na MO permitem, de forma simples e direta, o entendimento da estrutura morfológica molecular original desse material e de sua estabilidade na natureza.

**Palavras-chave:** microscopia confocal, matéria orgânica, solo, sedimentos, agregados moleculares.

***DIRECT CHARACTERIZATION OF ORGANIC MATTER IN SOILS AND SEDIMENTS BY  
CONFOCAL MICROSCOPY AND LIFE-TIME IMAGE***

**Abstract:** The present contribution intends to demonstrate that Scanning Confocal Microscopy (MC) can be used as a non-destructive fluorescence technique capable of characterizing organic matter (OM) directly in pristine soils and sediments without prior sample preparation, as well as chemical extraction or fractionation of its constituent elements. Spectral and life time images of soils and sediments in aqueous medium (pH ~ 7) reveal that the OM is found in the form of molecular aggregates interacting with the surface of the mineral fraction which ensures high spectral and lifetime contrast of the mineral particulates. In addition, the use of infrared two-photon excitation proved to be adequate for selective excitation of these aggregate molecular states. The results suggest that the migration and energetic relaxation of the excited state along the aggregate state density are responsible for spectral shifts and fluorescence lifetime changes that depend on the MO concentration given by the percentage of total carbon (% C) in soils. These characteristics of confocal microscopy together with photophysical processes produced in OM allow, in a simple and direct way, the understanding of the original molecular morphological structure of this material and its stability in nature.

**Keywords:** confocal microscopy, organic matter, soil, sediment, molecular aggregates.

**1. Introdução**

A matéria orgânica compõe menos de 5% dos solos e sedimentos e se encontra

frequentemente ligada à fração mineral particulada, formando um microsistema organo-mineral que certamente contribui para a sua estabilidade no ambiente natural. Porém, a maioria das técnicas utilizadas para estudar e quantificar a matéria orgânica exige necessariamente a separação da fase orgânica da fase mineral através de métodos químicos ou físicos de extração e, posteriormente, de fracionamento, que destroem e/ou degradam a estrutura morfológica original agregada da MO. Embora esses procedimentos tenham sido importantes para responder questões fundamentais sobre a natureza da MO, ainda existe muita discussão sobre a aplicabilidade dos mesmos [KLEBER, M. et al., 2015 e 2019]. Além disso, ainda persistem muita discussão e questionamentos sobre a natureza da matéria orgânica e pouco se sabe a respeito de sua estrutura no agregado e das interações moleculares dentro desse complexo organo-mineral encontrado na natureza. Obviamente, a presença de contaminantes inorgânicos e de metais obscurece os detalhes mais finos desse quebra-cabeça que forma a MO e que são necessários para o entendimento mais completo de suas propriedades. [GRANT, D. 1977]

Uma propriedade importante da MO é capacidade de emissão eficiente de luz fluorescente oriunda da fração aromática ligada a uma estrutura supramolecular mais complexa [DROSOS, M. et al. 2018] chamada de substância húmica (SH). Assim, muitas técnicas óticas fluorescentes têm sido utilizadas para caracterizar principalmente a SH extraída em solução ou aquela encontrada diretamente de amostra de solo [TADINI, A. M. et al. 2017] usando luz de excitação de comprimento de onda adequado. Porém, essa estrutura supramolecular tem a tendência de se condensar na forma de agregado molecular estabilizado por interações intermoleculares fracas [DROSOS, M. et al. 2018]. Esse estado agregado da SH forma a fase orgânica depositada sobre a fase mineral particulada de solos e sedimentos e pode ser encontrada mesmo em solução alcalina dependendo da concentração da SH. No entanto, essa fase agregada da SH gera um contínuo de estados moleculares de baixa energia na região do visível o que confere a coloração indefinida escura (marrom-preta) da MO dependendo da concentração.

Estados moleculares de agregados da SH que emitem fluorescência podem ser utilizados para caracterizar a MO no que diz respeito à estrutura morfológica sobre a fase inorgânica e às interações envolvidas na formação desse agregado. Estas propriedades determinam a estabilidade, bem como a sua compactação e os limites para empilhamento molecular da SU na superfície ativa da matéria inorgânica. A grande variabilidade da porcentagem de carbono total em solos se deve a essa capacidade de retenção da MO sobre a fase inorgânica.

Neste trabalho vamos demonstrar que microscopia confocal e as técnicas associadas de imagem multiespectrais e de tempo de vida podem ser usadas como ferramentas óticas não destrutivas poderosas para estudar, de forma simples e direta, os processos emissivos da MO em amostras de solos e sedimentos nas suas condições originais. Aqui, a excitação por 2 fótons (2P) no infravermelho se mostrou apropriada para excitar seletivamente estados agregados da SH na região do visível entre 400 e 700 nm e ter acesso direto dos aspectos fundamentais do estado agregado. O uso dessa técnica microscópica poderá se somar ao esforço para o entendimento maior da estrutura macromolecular da SH na natureza, bem como o seu feito na estabilização e na fixação em diferentes ecossistemas.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Materiais**

Neste trabalho foram analisados solos do sistema Integrado Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF) e de Florestas próximas ao sistema ILPF localizados na região de São Carlos, SP. Sedimentos foram obtidos na área de estudo da bacia do Rio Tietê e do seu afluente Rio Piracicaba. Solos da margem concomitante aos sítios de coleta de sedimentos foram coletados e usados como referência. 20 mg de mostras de solo foram medidas em ambiente aquoso colocadas entre lamínulas para uso em microscopia confocal conforme Figura 1. A amostragem do solo ILPF e de floresta foi efetuada a partir fatias representativas obtidas em trincheiras de profundidade de 1 m a partir da superfície. Os solos de referência nas margens dos Rios Tietê e Piracicaba foram coletados na

superfície na profundidade de 10 cm. Já as amostras de sedimentos nesses rios foram tomadas com um tubo extrator que retirou em entre 40 e 70 cm de profundidade de sedimento.



Figura 1. Pequenas amostras de solo para microscopia confocal foram preparadas em ambiente aquoso (pH~7).

## 2.2. Microscopia Confocal

Um microscópio confocal de varredura por fluorescência da marca Zeiss, modelo LSM 780 invertido foi utilizado com excitação por um fóton (1P) através de um laser de diodo em 405 nm e por dois fótons (2P) por meio de laser externo Coherent, modelo Cameleon em 800 nm, com largura de pulso de 100 fs e repetição de 80 MHz. A lente objetiva utilizada foi de 20x e 0,8NA. As imagens espectrais foram medidas através de arranjo de detectores GaAsP refrigerados de alta sensibilidade entre 400-700 nm. Imagens no modo canal foram obtidas em cor falsa e dão informação de características do recobrimento das partículas inorgânicas por SH e de textura. Nesse modo canal, outro detector NDD - Non-Descanned Detector foi utilizado para fazer imagem no modo de transmissão através da luz de excitação 1P e 2P. Dois detectores (canais CH1 e CH2) de avalanche foram usados para imagem e espectroscopia de tempo de vida da fluorescência (Fluorescence-lifetime imaging microscopy - FLIM) com resolução temporal de 75 ps e excitação 2P em 800 nm. A faixa espectral detectada pelo canal CH1 foi a região da clorofila de 645-700 nm e pelo canal CH2 foi de 500-550 nm, região espectral associada ao máximo de intensidade de emissão da matéria orgânica em solução (pH 9) na concentração de 1 ppm, usada como referência.

## 2.3. Análise das imagens

Imagens obtidas no modo espectral foram feitas em uma área de 225x225  $\mu\text{m}^2$  contendo 1024x1024 pixels, fornecendo varredura com sobreposição de 35% entre pixels sucessivos de resolução lateral de aproximadamente de 250 nm. Cada pixel de imagem possui um espectro de fluorescência associado e que gera um arquivo multiespectral. Os 1024x1024 espectros foram analisados através de programa de extração e de classificação espectral descrito por [Falvo, M., 2015], que fornece a assinatura espectral da amostra, as classes espectrais mais representativas e a imagem classificada através de cores falsas.

## 3. Resultados e Discussão

A Figura 2 exemplifica (a) imagem típica de microscopia confocal de solo ILPF no modo espectral e (b) imagem correspondente obtida pelo método de classificação em 7 classes espectrais mostradas em (c). As imagens foram feitas em água (pH~7) e possuem alto contraste, o que demonstra, dentro do limite de detecção nas condições do experimento, que a fração fluorescente da matéria orgânica se encontra depositada na superfície da fração inorgânica. A banda larga acima de 550 nm está associada a emissões envolvendo estados agregados da SH e sua posição espectral depende do grau de recobrimento ou concentração de moléculas de SH depositadas na superfície do mineral. Aqui, a banda deslocada para o azul (coloração azul) está associada à MO menos agregada ou a menor concentração de SH. Já o deslocamento para o vermelho pode ser associado a estados emissivos ocorrendo em um sistema molecular mais agregado (coloração vermelha). A mesma figura, embaixo, mostra imagem no modo canal (a') da mesma amostra em cor falsa vermelha, a imagem correspondente de luz transmitida (b') do laser de excitação por 2P em 800 nm e a superposição das duas imagens (c'). Pode-se ver que a fração mineral é transparente à luz de excitação e que a SH não interage com algumas das partículas minerais arenosas.



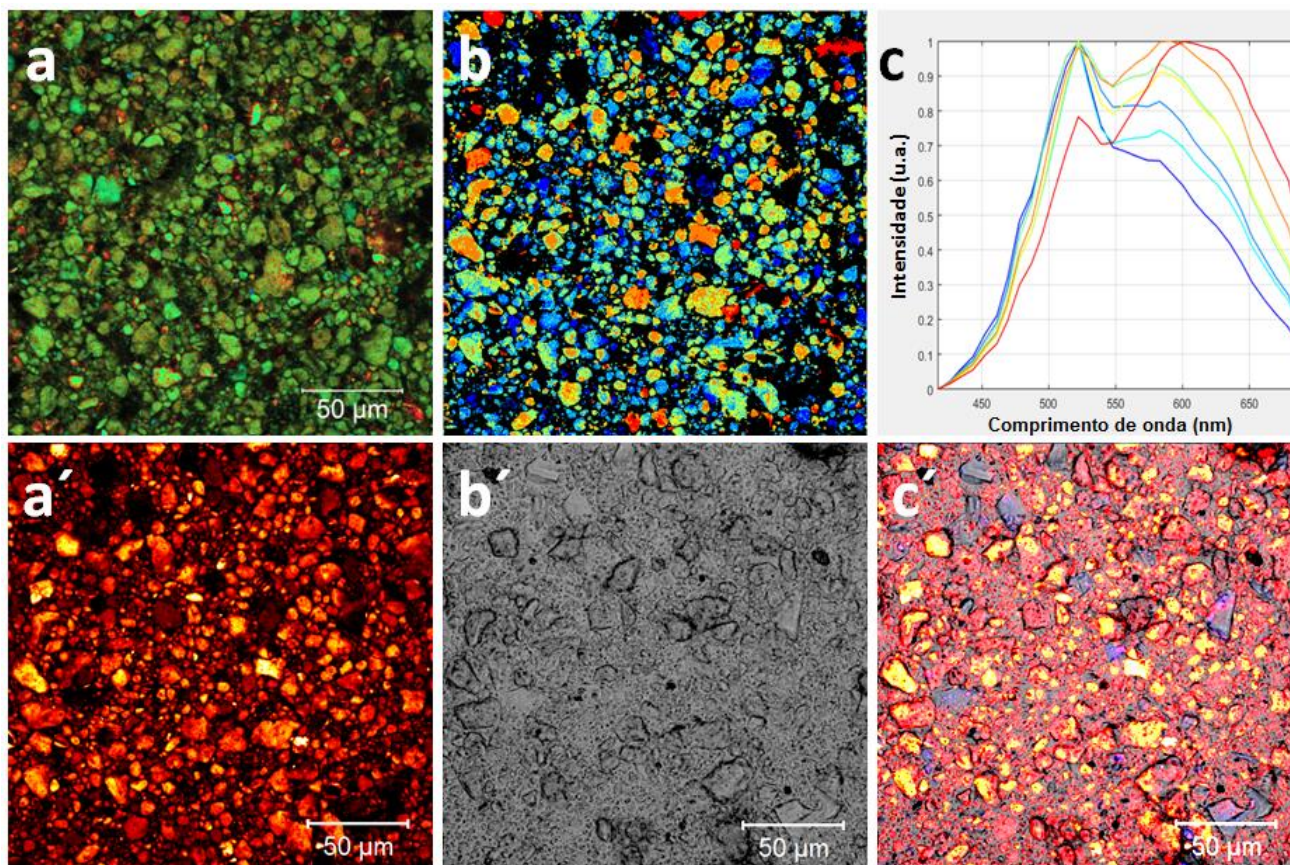


Figura 2. Em cima, a) imagem no modo espectral de amostra de solo ILPF e b) a correspondente imagem classificada em 7 classes espectrais mostradas no gráfico c). Em baixo, imagens a') no modo canal em cor falsa da mesma amostra de solo ILPF e b') a correspondente imagem de luz transmitida de campo amplo. A imagem c') corresponde à superposição das imagens a') e b'). A excitação 2P utilizada foi a de um laser em 800 nm.

A Figura 3.a apresenta imagem típica de tempo de vida (FLIM) para a amostra de solo ILPF (Figura 3) extraída na profundidade entre 20-30 cm. A escala contínua de cores foi associada aos tempos de vida médios representativos entre 0,6 e 3,3 ns, calculados para cada pixel. O contraste de tempo de vida dá informação dos processos fotofísicos envolvidos no arranjo molecular excitado dentro da resolução óptica fornecida pelo volume confocal menor que femtolitros. Os decaimentos da fluorescência para amostras de solo extraídas em diferentes profundidades são mostrados na Figura 3.b. Os decaimentos para cada pixel foram ajustados pela superposição de duas exponenciais: uma de tempo de vida curto  $\tau_c$  que variam de 0,2 e 0,5 ns e outra com tempo de vida longo  $\tau_l$  da ordem de 2,5 a 3,1 ns. Essa variação está relacionada com a concentração ou compactação molecular sobre a superfície do particulado inorgânico e está correlacionado com valores de carbono total C% da amostra analisada. O processo de decaimento rápido dado por  $\tau_c$  está associado diretamente à migração do estado excitado entre moléculas do agregado molecular e à desativação deste estado excitado dentro do intervalo do tempo de vida por processos não radiativos envolvendo, por exemplo, defeitos aceitadores de carga como grupamentos carbonila. As interações moleculares e a migração do estado excitado via transferência de energia são maiores em agregados moleculares mais densos em amostras de solo próximas à superfície e são menores em agregados menos densos para amostra com menor valor de C%. O tempo de vida longo  $\tau_l$  está associado ao processo emissivo final que sobrevive à desativação por defeitos durante os processos rápidos de migração entre moléculas e de relaxação energética dentro dos estados de agregados moleculares.

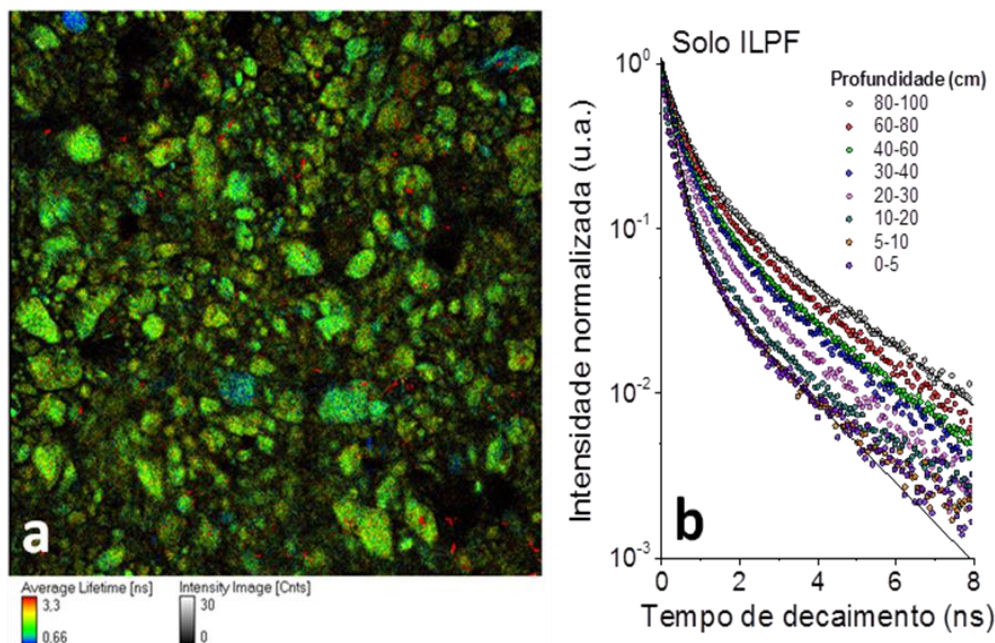


Figura 3. a) Imagem de tempo de vida (FLIM) de amostras de solo ILPF obtida para a profundidade de entre 20-30 cm. A imagem usa escala de cores contínua associada ao tempo de vida médio calculado para cada pixel. b) Decaimentos médios da fluorescência correspondentes obtidos por integração dos decaimentos em cada pixel correspondentes a imagens para amostras de solo obtidas em diferentes profundidades.

#### 4. Conclusões

O presente trabalho pretende mostrar que microscopia confocal pode fornecer informações valiosas da estrutura molecular original que forma a matéria orgânica de solos e sedimentos. O arranjo molecular em forma de agregado está correlacionado com o carbono total nesses materiais, uma vez que a densidade de moléculas nos agregados moleculares sobre a superfície da fração inorgânica depende da concentração da substância orgânica nos solos ou sedimentos.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio da Embrapa Instrumentação e da FAPESP (Fundação de Pesquisa de São Paulo) aos projetos 2013 / 07276-1 (CEPOF - Programa CEPID) e 2009 / 54035-4 (UEM).

#### Referências

- FALVO, M. Método de mapeamento espaço-espectral em imagens multi-espectrais e sua aplicação em tecidos vegetais. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, 2015.
- GRANT, D. Chemical structure of humic substances. *Nature*, v. 270, p. 709-710, 22 Dec 1977.
- LEHMANN, J., KLEBER, M. The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, v. 528, p. 60-68, Dec 2015.
- LEHMANN, J., KLEBER, M. Humic Substances Extracted by Alkali Are Invalid Proxies for the Dynamics and Functions of Organic Matter in Terrestrial and Aquatic Ecosystems. *Journal of Environmental Quality*, p. 207-216, March 2019.
- MARIOS DROSOS, M. et al. A molecular zoom into soil Humeome by a direct sequential chemical fractionation of soil. *Science of the Total Environment*, v. 586, p. 807-816, Mar 2016.
- TADINI, A. M. et al. Characterization of Organic Matter in Spodosol Amazonian by Fluorescence Spectroscopy. *International Journal of Geological and Environmental Engineering*, v.11, p.409-412, 2017

**DESEMPENHO DE SENSORES IGstat DE TENSÃO CRÍTICA DA ÁGUA NO SOLO, COM  
DIFERENTES TAMANHOS DE MICROESFERAS DE VIDRO**

Carlos M. P. Vaz<sup>1,\*</sup>, Carlos Dalkaine<sup>2</sup>, L. F. Porto<sup>3</sup>, Luis H. Bassoi<sup>1</sup>, André Torre-Neto<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua Quinze de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP*

<sup>2</sup> *Centro Universitário Central Paulista-UNICEP, R. Miguel Petroni, 5111, CEP 13563-470, São Carlos, SP*

<sup>3</sup> *TECNICER Tecnologia Cerâmica, Rua Salomão Assef, 51, 13570-382, São Carlos, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: carlos.vaz@embrapa.br*

**Resumo:** Visando contribuir com sensores de baixo custo para a irrigação, a Embrapa desenvolveu sensores constituídos de uma cápsula porosa com um material particulado com granulometria conhecida no seu interior, que retém e libera água quando o solo molha ou seca, denominado IGstat. Uma das limitações tem sido a obtenção de materiais particulados para diferentes valores de tensões críticas e boa reprodutibilidade. Este trabalho tem como objetivo desenvolver um procedimento para a construção e teste de sensores IGstat com diferentes pressões de borbulhamento (PB) ou limiares de irrigação. As frações granulométricas de esferas de vidro utilizadas, com diâmetros médios entre 10 e 100  $\mu\text{m}$ , possibilitaram a construção de sensores com limiares de irrigação entre 9 e 45 kPa. O método proposto para a determinação da PB por pressão dinâmica é rápido e apresentou excelentes resultados. Os testes com os sensores em 3 solos de diferentes texturas mostraram que as pressões nos sensores foram reduzidas a zero quando os potenciais da água no solo alcançaram os valores das PB dos sensores, determinados pelo método de pressão dinâmica.

**Palavras-chave:** sensor de água no solo, microesferas de vidro, sensor IGstat, irrigação

**PERFORMANCE OF IGstat SENSORS OF CRITICAL SOIL WATER TENSION, WITH  
DIFFERENT GLASS BEADS DIAMETERS**

**Abstract:** Aiming to contribute with the development of low cost irrigation sensors, Embrapa has developed sensors containing an external porous cup with a granular material in the core that retain and release water when the soil wet or dry, named IGstat. One limitation has been to select granular materials for specific air bubbling pressures (BP) for threshold irrigation. The objective of this study was to develop a procedure for construction and test of IGstat sensors with varying BP values or critical (threshold) soil tension values. The selected glass beads granulometric fractions provided BP between 9 and 45 kPa. The method proposed for determination of the BP by dynamic pressure presented excellent results. Experiments carried out in 3 soils of different textures showed that the pressure into the sensor reduced to zero when the soil matric potential was close to the sensor BP, as determined by the dynamic pressure method proposed.

**Keywords:** soil water sensor, micro glass beads, IG sensor, irrigation

**1. Introdução**

O Brasil está entre os 10 países com maior área irrigada, com cerca de 7 milhões de ha, o que representa cerca de 5% de toda área agricultável (ANA, 2017). A aplicação racional da água na irrigação pressupõe o seu uso no momento e quantidades adequadas às demandas das culturas, considerando a precipitação, evapotranspiração, a umidade e potencial da água no solo em todo o ciclo da cultura.

Para tanto, sensores de medida do conteúdo de água ( $\theta$ ,  $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ ) e potencial matricial ( $h$ , kPa) da água no solo são de extrema importância para uma irrigação eficiente. No caso dos sensores de umidade existem diversos dispositivos disponíveis comercialmente com precisões da ordem de 1-

3% (VAZ et al. 2013). Já no caso dos medidores de potencial matricial, os sistemas mais utilizados são os tensiômetros de cápsula porosa com medidores de pressão negativa. Esses dispositivos têm boa precisão, mas apresentam alguns inconvenientes como a ocorrência de cavitação da água (formação de bolhas de ar) quando o potencial matricial se aproxima da tensão barométrica. Nesse caso, o tensiômetro perde sua funcionalidade havendo a necessidade do seu preenchimento com água e estabelecimento de novo vácuo no sistema. Outros sensores comerciais de potencial matricial da água no solo são baseados na medida da resistividade elétrica em um bloco poroso de gesso ou outro material poroso, como é o caso do Watermark (Irrometer). Esses dispositivos, apesar de não apresentarem problemas de cavitação, são afetados por variações da temperatura e da salinidade do solo, além de perda de eficiência com o tempo de uso (MOTA et al. 2018). Por esses motivos, há interesse na pesquisa em se desenvolver novos dispositivos de medida do potencial matricial da água no solo com maior precisão e confiabilidade.

Visando solucionar esses problemas, a Embrapa desenvolveu um dispositivo constituído de uma cápsula porosa com um material particulado de granulometria conhecida no seu interior, que retém e libera água quando o solo molha ou seca, denominado IGstat. Durante a secagem, o meio permeia ar, possibilitando o uso de sistemas pneumáticos para a determinação da tensão da água no solo. O sensor IGstat é de fácil construção e possui excelente reprodutibilidade com o uso de materiais particulados padronizados. Dentre as diversas possibilidades de montagem desses sistemas e aplicações, o seu uso como um sensor de irrigação de tensão crítica é que tem apresentado os resultados mais promissores. Entretanto, uma das limitações tem sido a obtenção de materiais particulados para diferentes valores de tensões críticas e com alto grau de reprodutibilidade.

Dessa forma, este trabalho tem como objetivo apresentar um procedimento prático para selecionar materiais com diferentes granulometrias que possibilitem a obtenção de diferentes valores de tensões críticas e a construção de sensores IGstat para a irrigação de hortifrútiis, grãos e fruteiras. Para tanto, utilizou-se microesferas de vidro (EV) separadas por processos de sedimentação e peneiramento, definindo-se 7 faixas de granulometrias, entre cerca de 10  $\mu\text{m}$  e 100  $\mu\text{m}$ . As medidas de pressão de borbulhamento (PB) dos sensores, usada como limiar de irrigação, foram determinadas pelo método de pressão dinâmica-fluxo lento e os testes com os sensores de diferentes granulometrias de EV foram realizados em 3 solos com diferentes texturas.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1 Sensores IGstat avaliados**

Os sensores avaliados foram confeccionados pela Tecnicer Cerâmica, utilizando-se EV separadas por sedimentação (lei de Stokes) na Embrapa Instrumentação. As frações selecionadas foram: 60-70  $\mu\text{m}$ , 50-60  $\mu\text{m}$ , 40-50  $\mu\text{m}$ , 30-40  $\mu\text{m}$ , 20-30  $\mu\text{m}$ , 10-20  $\mu\text{m}$  e < 10  $\mu\text{m}$ . As granulometrias das frações foram obtidas por um analisador granulométrico automático desenvolvido na Embrapa Instrumentação (NAIME et al. 2001). Os sensores IGstat confeccionados pela Tecnicer possuem diâmetro de 17 mm, altura de 50 mm, 2 mangueiras para entrada e saída do ar, com as microesferas de vidro no núcleo interno. Externamente, utiliza uma cerâmica sinterizada cilíndrica de cor clara que irá fazer o contato físico e hidráulico com o solo. Para o adequado funcionamento dos sensores IGstat, a PB da cerâmica externa deve ser superior à do núcleo interno de microesferas de vidro (CALBO et al. 2013). Para o teste, foram confeccionados 3 sensores para cada uma das 7 frações (Total de 21 sensores). As medidas de PB foram realizadas em triplicata para cada sensor.

### **2.2 Montagem experimental para determinação das pressões de borbulhamento**

A Figura 1 apresenta a montagem experimental utilizada na determinação da PB dos sensores, utilizando o modo dinâmico de pressão-lento. Nesse modo, aplica-se uma pressão superior à maior PB de todos os sensores que estão sendo avaliados, que nesse caso é o de EV com fração < 10  $\mu\text{m}$ . Testes iniciais indicaram que a PB dessa fração <10  $\mu\text{m}$  é da ordem de 40 kPa e assim selecionou-se uma pressão de ar na bomba Quimis Q955P1, de 55 kPa. Essa pressão foi utilizada no

teste dos sensores de fração  $< 10 \mu\text{m}$  e  $10\text{-}20 \mu\text{m}$ . Já para os sensores das demais frações ( $20\text{-}30$ ;  $30\text{-}40$ ;  $40\text{-}50$ ;  $50\text{-}60$  e  $60\text{-}70 \mu\text{m}$ ) as medidas foram feitas com uma bomba de aquário da marca Big Air, modelo A230, cuja pressão máxima é de 23 cmHg (30,7 kPa), uma vez que a PB da fração  $20\text{-}30 \mu\text{m}$  é da ordem de 25 kPa. Para que seja possível se realizar as medidas de PB no modo dinâmico, o fluxo de ar deve ser muito baixo ( $\sim 2\text{mL}/\text{min}$ ) e para isso utilizou-se um restritor de pressão confeccionado com tubo de cobre, onde o equilíbrio foi alcançado em cerca de 5 min após o acionamento da bomba de pressão. Neste caso, mede-se a pressão no manômetro de mercúrio em intervalos regulares de 10 a 30 seg até a obtenção da pressão de equilíbrio, que se dá em no máximo 10 min para os sensores de maior PB, registrando-se também o tempo e a pressão no qual o borbulhamento se inicia. As medidas foram realizadas em triplicata.

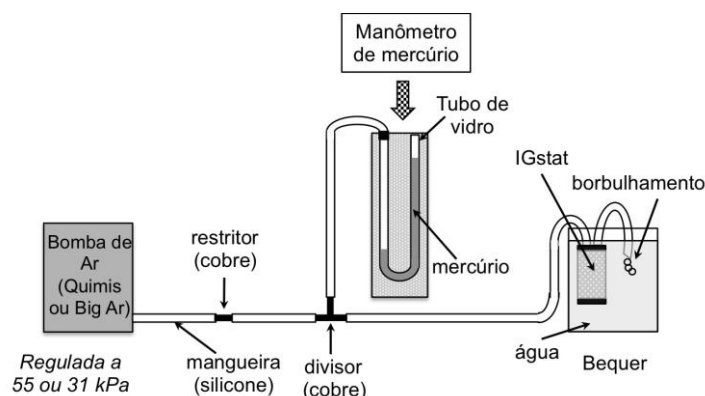


Figura 1. Montagem experimental para medida da PB de sensores IGstat no modo Pressão-Dinâmico lento.

### 2.3 Experimento em solo para teste dos sensores

Para a avaliação dos sensores utilizou-se 3 caixas com diferentes solos (Nitossolo-argiloso, LVA-textura média e Neossolo-textura arenosa), onde os sensores com as 7 classes de granulometria foram instalados, juntamente com tensiômetros de manômetro de mercúrio e sensores de umidade do solo (5TE, Degagon).

As 3 caixas foram saturadas e deixadas secar por evaporação para a realização das medidas por um período total de 6 meses, com re-saturação a cada 2 meses, ou seja com o ciclo saturação-secagem realizado 3 vezes para cada solo nesse período. As medidas nos sensores IGstat foram realizadas ao menos uma vez por dia, aplicando-se uma pressão de 2,7 cmHg e medindo-se a pressão com um manômetro de mercúrio após 5 min de equilíbrio. O valor da pressão era então anotado em uma planilha, juntamente com os valores do potencial matricial (tensiômetros) e da umidade do solo (sensores 5TE). O desempenho dos sensores nos 3 solos, em 3 ciclos de secamento, foi avaliado em gráficos da pressão no sensor em função do potencial matricial medido.

## 3. Resultados e Discussão

As distribuições dos tamanho de partículas das 7 classes de EV utilizadas para a construção dos sensores IGstat são apresentadas na Figura 2, na forma de histogramas. Observa-se que algumas frações apresentam granulometrias fora das faixas esperadas, ocasionado provavelmente pela dificuldade em se separar os diâmetros maiores, uma vez que os tempos de sedimentação são de algumas dezenas de segundos. Entretanto, o importante é que as faixas granulométricas foram determinadas e há uma variação considerável nas faixas de diâmetro (de 1 a cerca de  $120 \mu\text{m}$ ), o que irá proporcionar diferentes PB entre as frações selecionadas. Os valores mínimos, máximos e a média dos diâmetros das 7 frações de EV são apresentadas na Figura 2 à direita.

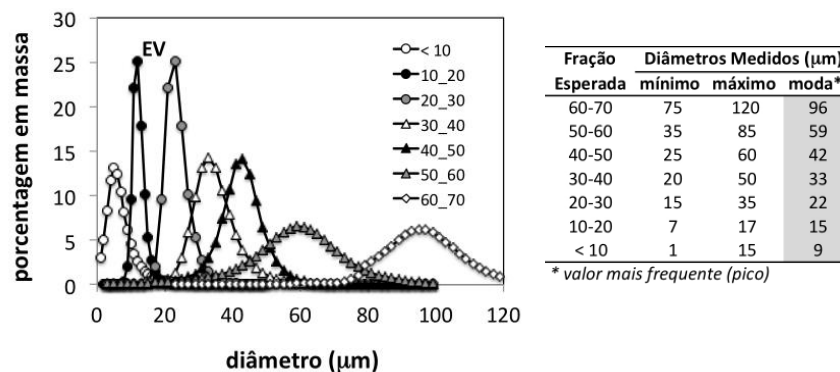


Figura 2. Distribuições granulométricas das 7 frações de esfera de vidro separadas por sedimentação, medidas pelo analisador granulométrico de raios gama. À direita são mostrados os valores mínimos, máximos e a moda de cada fração granulométrica.

Os resultados das medidas de PB nos sensores IGstat para as 7 frações de EV são apresentadas na Figura 3a. Observa-se em todos os casos um aumento praticamente linear na etapa inicial e posteriormente uma rápida diminuição e estabilização da pressão, que ocorre no momento do borbulhamento na saída do sensor. O valor da PB é a pressão medida no manômetro de Hg no borbulhamento e coincide com o valor máximo (equilíbrio), verificado na Figura 3a.

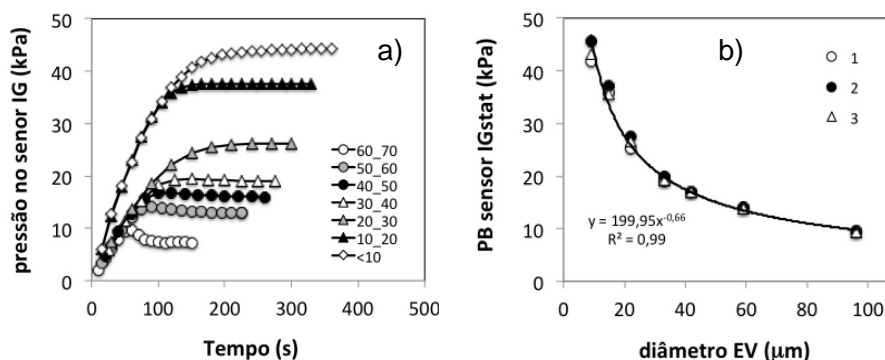


Figura 3. Pressão no sensor IGstat em função do tempo (a), utilizando a montagem da Figura 1 e as pressões de borbulhamento (PB) em função dos valores mais frequentes dos diâmetros das EV (b).

Como esperado, a PB aumenta com a diminuição do diâmetro das frações granulométricas das microesferas de vidro (Figura 3b). A PB apresentou uma variação não linear com o diâmetro das EV, sendo que a função matemática que melhor se ajustou aos dados experimentais foi:  $PB = 199,9 D^{0,661}$ , onde PB (kPa) é a pressão de borbulhamento e D (µm) a moda da distribuição da fração granulométrica das EV.

Os resultados dos testes dos sensores IGstat com diferentes tamanhos de EV são apresentados na Figura 4a,b,c,d,e,f,g, incluindo os dados dos 3 solos e 3 ciclos de secagem a partir da saturação. Verifica-se para todos os sensores que quando o solo está bem úmido (baixos valores de tensão de água ou potencial matricial) as pressões medidas são iguais à pressão aplicada (~2,7 cmHg). Quando o solo seca para tensões de água próximas às PB dos sensores a pressão começa a diminuir, chegando a valores próximos a zero (ar flui quase livremente pelas EV, pois não há mais água retida nas EV). Para efeitos práticos, considerou-se como limiares indicativos para irrigação (PB) quando a pressão no sensor alcançou o valor de 0,5 cmHg. Na Figura 4h os limiares de irrigação (PB) obtidos dos experimentos com os 3 solos são comparados com os valores de PB obtidos pelo método da pressão dinâmica, onde verifica-se excelente concordância dos dados nos 2 testes. As medidas realizadas nos 3 solos por 6 meses foram consistentes em termos das repetições (diferentes solos e 3 ciclos), não havendo perda de eficiência dos sensores.

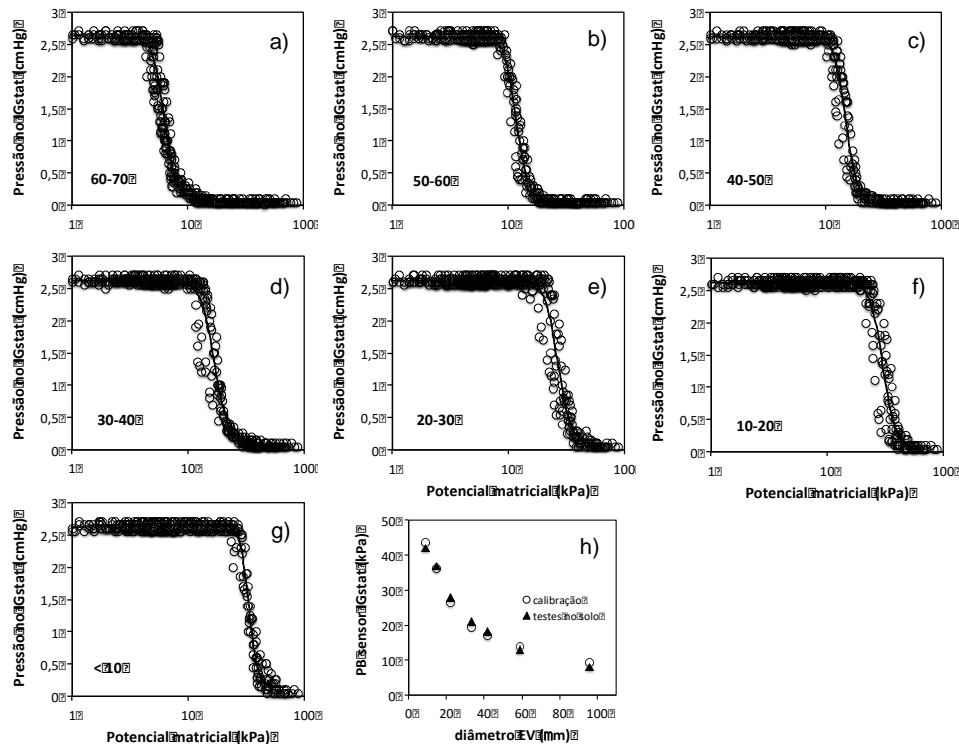


Figura 4. Pressões nos sensores IGstat em função dos potenciais matriciais (tensiômetros) nas 7 frações de EV (a, b, c, d, e, f, g). Dados para 3 solos com 3 ciclos de secagem. Comparação entre as PB medidas na calibração (método pressão dinâmica) e os valores obtidos nas caixas com solos (g).

#### 4. Conclusões

As frações granulométricas de EV selecionadas, com diâmetros médios entre a 10 e 100  $\mu\text{m}$ , possibilitaram a construção de sensores IGstat com limiares de irrigação entre 9 e 45 kPa. O método proposto para a determinação da PB por pressão dinâmica é rápido e apresentou excelentes resultados. Os testes com os sensores em 3 solos de diferentes texturas mostrou que a pressão no sensor foi reduzida a zero para potenciais da água no solo próximos aos PB dos sensores, determinados pelo método de pressão dinâmica (calibração).

#### Agradecimentos

Embrapa (projeto 03.14.09.002.00.03), CNPq (projeto 312282/2017-6; 308005/2016-3) e SENAI.

#### Referências

- CALBO, A.G.; VAZ, C.M.P.; PORTO, L.F.; MAROUELLI, W.A. Sensor de tensão de água, sistema para caracterização e medições contínuas de água no solo, sistema de indicação de tensão crítica no solo e haste de irrigação. Patente BR 0097721, 2013
- MOTA, M., T. MARQUES, T. PINTO, F. RAIMUNDO, A. BORGES, J. CACO, J. GOMES-LARANJO. Relating plant and soil water content to encourage smart watering in chestnut trees. *Agricultural Water Management*, v.203, p.30-36, 2018
- NAIME, J.M., C.M.P. VAZ, A. MACEDO. Automated soil particle analyzer based on gamma ray attenuation. *Computers and Electronics in Agriculture*, v.31, p.295-304, 2001
- VAZ, C.M.P., S. JONES, M. MEDING, M. TULLER. Evaluation of standard calibration functions for eight electromagnetic soil moisture sensors. *Vadose Zone Journal*, v.12, vj2012.0160, doi:10.2136/vj2012.0160, 2013
- ANA-Agência Nacional de Águas. Atlas Irrigação-Uso da água na agricultura irrigada, Brasília-DF, 2017





## **CAPÍTULO 6**

### **Nanotecnologia e Novos Materiais no Agronegócio**



**NANOFIBRAS POLIMÉRICAS MODIFICADAS COM ÓXIDO DE GRAFENO  
APLICADAS NA REMOÇÃO DE CORANTE EM SOLUÇÃO AQUOSA**

Augusto D. Alvarenga<sup>1,\*</sup>, Fernanda L. Migliorini<sup>2</sup>, Kelcilene B.R. Teodoro<sup>2</sup>, Murilo H. M. Facure<sup>3</sup>,  
Daniel S. Correa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> PPG-Biotec UFSCAR, Rodovia Washington Luis Km 235 – CEP – 13560-000, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicado ao Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil

<sup>3</sup> PPGQ, Departamento de Química UFSCAR, Rodovia Washington Luis Km 235 – CEP – 13565-905, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: [augustoad2@yahoo.com.br](mailto:augustoad2@yahoo.com.br)

**Resumo:** Existe uma crescente preocupação em relação ao aumento da concentração de poluentes emergentes em diversos recursos hídricos, sendo que novas técnicas que possam auxiliar a remediar estes problemas tem sido buscada. Por exemplo, sistemas de elevada área superficial como nanofibras poliméricas tem potencial para otimizar a remediação deste tipo de substâncias. Neste trabalho, foram produzidas nanofibras poliméricas fabricadas por fiação por sopro em solução (SBS) e posteriormente modificadas por óxido de grafeno, para aplicação na adsorção do corante azul de metileno, empregado como modelo. Os resultados preliminares indicam que um bom desempenho do GO de múltiplas camadas na adsorção de corante, sendo que novos estudos estão em andamento.

**Palavras-chave:** Nanofibras, fiação por sopro em solução, grafeno, adsorção de poluentes

**POLYMER NANOFIBERS MODIFIED WITH GRAPHENE OXIDE APPLIED IN DYE REMOVAL FROM WATER SAMPLE**

**Abstract:** There is growing concern about the increasing concentration of emerging pollutants in various water resources, which has motivated the development of novel techniques capable to tackle this problem. For instance, high surface area system as polymer nanofibers can optimize the remediation of these substances. In this work we produced polymer nanofibers through solution blow spinning, which were further modified by graphene oxide and used as a platform for dye adsorption. The preliminary results indicate that the multilayer GO presents a good performance in dye removal from water samples and novel experiments are being carried out.

**Keywords:** Nanofiber, solution blow spinning, graphene, adsorption of pollutants

**1. Introdução**

A modernização da sociedade tem levado a emissão de novos poluentes em recursos hídricos, incluindo pesticidas, hormônios, antibióticos, além de corantes. Por exemplo, os corantes muito utilizados em diversos setores industriais, sendo que sua presença nos recursos hídricos afeta a transparência da água e a solubilidade de gases (SARATALE et al., 2011) possui ação tóxica para a fauna e a flora aquática (SHAH; DAVE; RAO, 2019), já foram observados doenças neurológicas (ALDA et al., 2017; ZAKARIA; HAMDI; ABDEL-KADER, 2016), efeitos de interações com medicamentos e queda na serotonina (CHAN et al., 2018; KEN GILLMAN, 2011). Existem diversos trabalhos envolvendo a adsorção de AM com diferentes materiais como resíduos agrícolas, esponjas, argilas, nanofibras, etc (LI et al., 2018; MERCANTE et al., 2017a; MOMINA et al., 2019; NOVAIS et al., 2018).

As nanofibras poliméricas, materiais de elevada área superfície e que podem ser

funcionalizadas quimicamente, podem ser utilizadas na adsorção e remoção de poluentes em água. As nanofibras podem ser produzidas de diversas maneiras, incluindo a técnica de eletrospinning (MERCANTE et al., 2017b; YALCINKAYA, 2019) e a técnica de *Solution blow spinning* (MEDEIROS et al., 2009). Esta última é uma técnica relativamente nova e semelhante à eletrospinning que vem ganhando espaço devido ao seu menor custo operacional e maior produtividade. A produção de nanofibras de poliamida 6 é bastante utilizada devido a suas propriedades mecânicas e térmicas interessante (YOON et al., 2017) O óxido de grafeno (GO) e o óxido de grafeno reduzido (rGO) também são materiais com grande potencial de aplicação em diversas áreas. Suas combinações com nanofibras tem se demonstrado eficiência na adsorção de poluentes (MERCANTE et al., 2017a). As folhas de GO possuem maior estabilidade em solução que o GO reduzido devido a repulsão eletrostática entre os grupos aniônicos de oxigênio. Estudos demonstraram uma boa estabilidade do GO sob agitação por 28 dias (CHOWDHURY et al., 2013). Entretanto, não foram encontrados estudos de estabilidade e aplicações de GO armazenados por tempos maiores. Então, este trabalho procurou investigar a utilização de GO armazenados por 18 meses em nanofibras de PA6 produzidas por SBS na adsorção de azul de metileno

## 2. Materiais e Métodos

A poliamida 6 (PA6) e o azul de metileno (AM) foram adquiridos da *Sigma Aldrich*. O ácido fórmico foi adquirido da *Synth chemical* (São Paulo, Brasil). O diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), flocos de grafite, ácido clorídrico (HCl), peróxido e hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ) e ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) foram obtidos da Dinamica, Brasil. Todos produtos foram usados sem nenhum pré tratamento.

Os grânulos de PA6 foram diluídos em ácido fórmico e diclorometano e agitados a 1000 rpm por 5 horas a temperatura ambiente para formar uma solução de concentração de 25% (w/v). Essa solução foi utilizada para produzir uma manta de nanofibras pelo método *Solution Blow Spinning* (SBS). O SBS é formado por uma bomba de ejeção controlada modelo NE-300, uma seringa carregada com a solução de polímero, uma agulha de 0,5 mm de diâmetro, um sistema de bicos concêntricos para ejeção do ar comprimido e um coletor cilíndricos rotativo. As condições de produção da manta são a agulha posicionada com uma protuberância de 2 mm da saída do ar, uma taxa de ejeção de  $7 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ , 1,5 bar de pressão do ar.

A produção do óxido de grafeno (GO) foi realizada pelo método Hummers já relatado na literatura (CHEN et al., 2013). Uma solução de  $3,9 \text{ mgml}^{-1}$  de GO foi estocada por 18 meses sob abrigo da luz e a temperatura ambiente. Essa solução foi diluída a  $1 \text{ mgml}^{-1}$  e sonificada com 10% de amplitude contínua em um sonificador de ponteira por 30 minutos em banho de gelo.

As mantas de PA6 foram submetidas a um tratamento de plasma a vácuo (*SPI Plasma Prep II system*) por 30 segundos. Imediatamente após a manta foi imersa na solução de GO onde permaneceu por 2 horas. Após esse tempo as mantas foram lavadas com  $\text{H}_2\text{O}$  miliq e secas em dessecador. Essas mantas foram chamadas de PA6GO.

Foram realizados testes de tração no equipamento Q-800. Os corpos de prova foram armazenados em dessecadores por pelo menos 2 dias antes da realização dos testes. Foi realizado uma taxa de rampa de força de  $700 \mu\text{m}/\text{min}$  até  $10000\mu$ . As dimensões dos corpos de prova foram 6,14 mm de largura, 0,147 mm de espessura e comprimento de 12,89mm.

Os testes de adsorção foram feitos com a manta funcionalizada com GO de  $1 \times 1 \text{ cm}$  de dimensão pesando cerca de 5,3 mg em soluções de AM 5ppm em um béquer de 50 ml sob agitação de 150 rpm a temperatura ambiente. Para isto, foram retirados 2ml para realização das medidas no espectrômetro UV-Vis e logo após está alíquota era devolvida no bequer. As medidas de concentração do AM foram realizadas no espectrômetro UV-Vis Lambda-25 (Perkin Elmer) em 664nm.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Morfologia das mantas e caracterizações

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi utilizada para estudar a morfologia das mantas de PA6 e do GO incorporado a manta. Na figura 1 podemos observar a morfologia da manta de PA6 e a média da distribuição da largura das fibras foi de  $189 \pm 51$ .

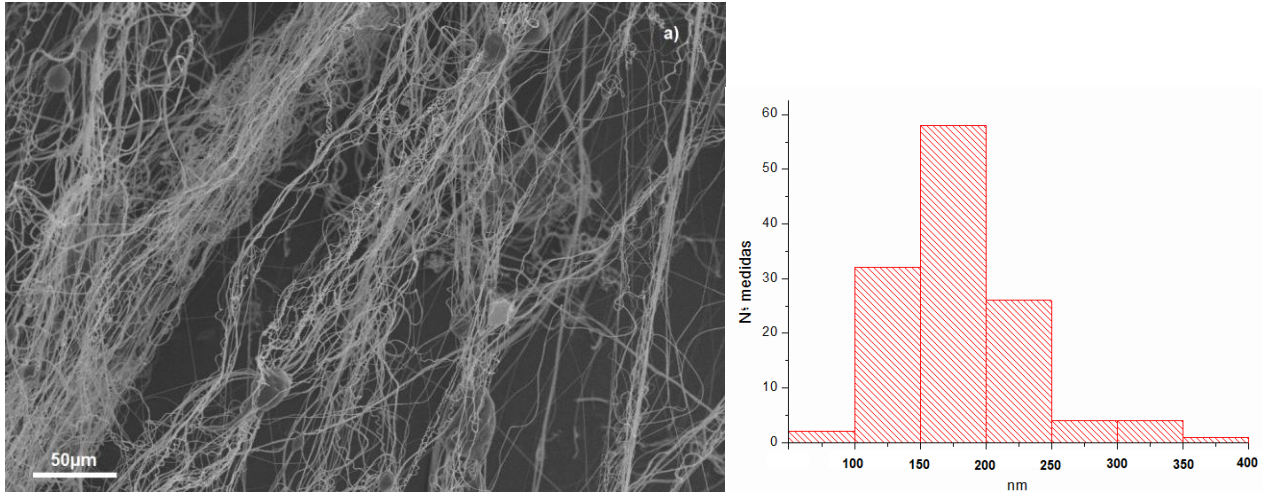


FIGURA 1. MEV de nanofibras dePA6 produzidas por SBS (a). Distribuição de tamanho das fibras (b)

Pode-se observar na figura 2 os resultados dos ensaios mecânicos das mantas PA6 e PA6GO. As mantas de nanofibras de PA6 são aplicadas em processos de filtração devido as suas boas propriedades mecânicas, sendo que os resultados observados aqui condizem com os encontrados na literatura (SETT; STEPHANSEN; YARIN, 2016). A funcionalização da manta PA6 com o GO promoveu maior resistência a tensão e menor elasticidade (SCAFFARO; MAIO, 2019).

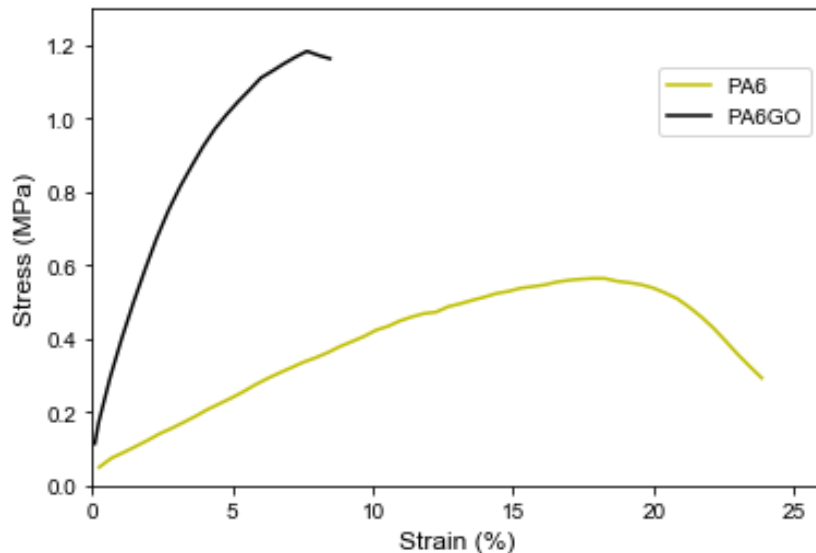


FIGURA 2. Teste de tração da manta de nanofibras de PA6.

A figura 3 mostra morfologia do GO incorporado na manta depois de esfoliado. Nota-se a presença de GO com diferentes níveis de esfoliação. Isso mostra uma certa estabilidade do GO mesmo após 18 meses de armazenamento. O tratamento do ultrassom de ponteira além de contribuir com a esfoliação das folhas de GO também quebrou as folhas de multicamadas em tamanhos menores.

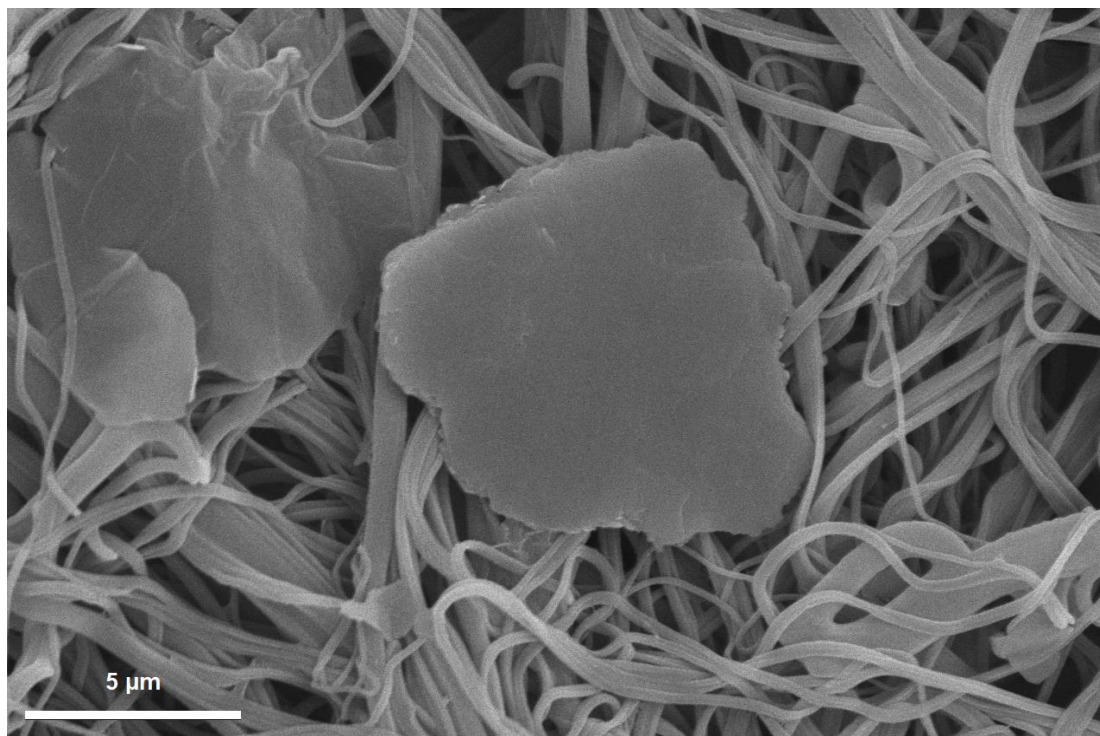


FIGURA 1. MEV da manta PA6GO.

### 3.2 Adsorção de Azul de Metileno.

Os testes de imersão foram realizados em temperatura ambiente. Enquanto a manta de PA6 adsorveu 6,77% do AM, a manta PA6GO possuiu capacidade de adsorção de 88,4% após 15 horas de imersão. Esses resultados demonstra a eficiência do GO na adsorção de poluentes mesmo depois de 18 meses estocado.

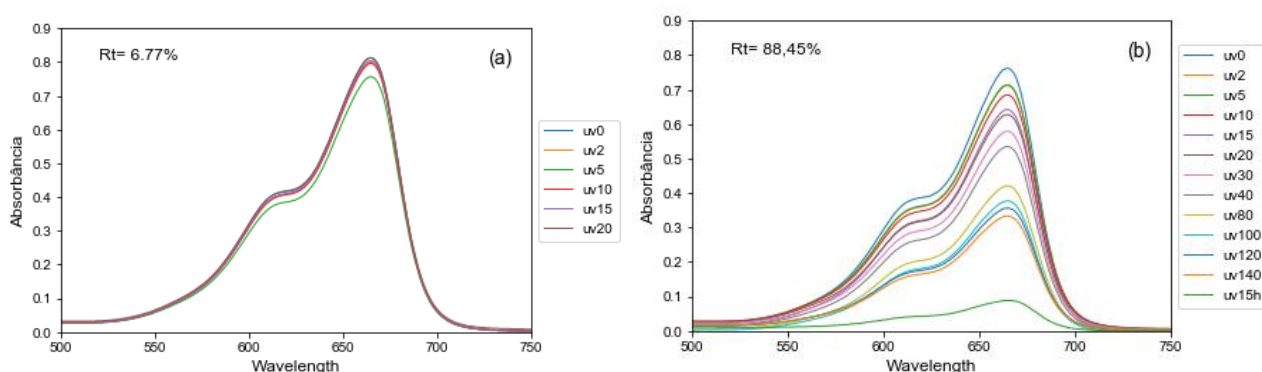


FIGURA 4. Adsorção de AM na manta PA6 (a) e PA6GO (b).

## 4. Conclusões

Os resultados preliminares obtidos demonstram que a utilização de nanofibras de PA6 produzidas por SBS modificadas com GO estocado por 18 meses na adsorção de AM possuem uma eficiência de 88,4% em 15 horas. Entretanto são necessários mais estudos para determinar o nível de empilhamento de GO durante longos períodos e quais as influências desse empilhamento na eficiência de adsorção de poluentes.

## Agradecimentos

Os autores agradecem às agências de financiamento CAPES – Código de Financiamento 001, FAPESP (2017/10582-8, 2017/21791-7), CNPQ 155512/2018-8, MCTI-SisNano e à Embrapa Agronano.

**Referências**

- ALDA, M. et al. Methylene blue treatment for residual symptoms of bipolar disorder: Randomised crossover study. **British Journal of Psychiatry**, v. 210, n. 1, p. 54–60, 2017.
- CHAN, B. S. et al. Vasoplegic Shock Treated with Methylene Blue Complicated by Severe Serotonin Syndrome. **Journal of Medical Toxicology**, v. 14, n. 1, p. 100–103, 2018.
- CHEN, J. et al. An improved Hummers method for eco-friendly synthesis of graphene oxide. **Carbon**, v. 64, n. 1, p. 225–229, 2013.
- CHOWDHURY, I. et al. Colloidal properties and stability of graphene oxide nanomaterials in the aquatic environment. **Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 12, p. 6288–6296, 2013.
- KEN GILLMAN, P. Review: CNS toxicity involving methylene blue: The exemplar for understanding and predicting drug interactions that precipitate serotonin toxicity. **Journal of Psychopharmacology**, v. 25, n. 3, p. 429–436, 2011.
- LI, Z. et al. Methylene blue adsorption from aqueous solution by loofah sponge-based porous carbons. **Colloids and Surfaces A**, v. 538, p. 28–35, 2018.
- MEDEIROS, E. S. et al. Solution Blow Spinning: A New Method to Produce Micro- and Nanofibers from Polymer Solutions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 113, n. 4, p. 2322–2330, 2009.
- MERCANTE, L. A. et al. Solution blow spun PMMA nanofibers wrapped with reduced graphene oxide as an efficient dye adsorbent. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 17, p. 9087–9094, 2017a.
- MERCANTE, L. A. et al. **Electrospinning-based (bio)sensors for food and agricultural applications: A review** TrAC - Trends in Analytical Chemistry, 2017b.
- MOMINA et al. Optimization study for the desorption of methylene blue dye from clay based adsorbent coating. **Water (Switzerland)**, v. 11, n. 6, 2019.
- NOVAIS, R. M. et al. Biomass fly ash geopolymer monoliths for effective methylene blue removal from wastewaters. **Journal of Cleaner Production**, v. 171, p. 783–794, 2018.
- SARATALE, R. G. et al. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 42, p. 138–157, 2011.
- SCAFFARO, R.; MAIO, A. Integrated ternary bionanocomposites with superior mechanical performance via the synergistic role of graphene and plasma treated carbon nanotubes. **Composites Part B: Engineering**, v. 168, n. January, p. 550–559, 2019.
- SETT, S.; STEPHANSEN, K.; YARIN, A. L. Solution-blown nanofiber mats from fish sarcoplasmic protein. **Polymer**, v. 93, p. 78–87, 2016.
- SHAH, D. P.; DAVE, R. S.; RAO, M. S. Enzymatic degradation of textile dye Reactive Orange 13 by newly isolated bacterial strain *Alcaligenes faecalis* PMS-1. **Ayon**, v. 8, n. 5, p. 55, 2019.
- YALCINKAYA, F. A review on advanced nanofiber technology for membrane distillation. **Journal of Engineered Fibers and Fabrics**, v. 14, p. 155892501882490, 15 jan. 2019.
- YOON, J. W. et al. Multi-jet electrospinning of polystyrene/polyamide 6 blend: thermal and mechanical properties. **Fashion and Textiles**, v. 4, n. 1, 2017.
- ZAKARIA, A.; HAMDI, N.; ABDEL-KADER, R. M. Methylene Blue Improves Brain Mitochondrial ABAD Functions and Decreases A $\beta$  in a Neuroinflammatory Alzheimer's Disease Mouse Model. **Molecular Neurobiology**, v. 53, n. 2, p. 1220–1228, 2016.

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SOLUÇÕES DE POLI(ÁCIDO LÁCTICO)  
CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA FIAÇÃO POR SOPRO EM  
SOLUÇÃO**M. S. Azerêdo<sup>1,2,\*</sup> e J. M. Marconcini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM/UFSCar), Rod. Washington Luis, km 235, CEP 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Laboratório Nacional de Nanotecnologia aplicada ao Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, R. XV de novembro, 1452, CEP 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: marina.azeredo16@gmail.com

**Resumo:** Neste trabalho foram sintetizadas nanopartículas de prata em solução de poli(ácido láctico). Nitrato de prata foi adicionado nas concentrações de 0%, 0,010%, 0,015%, 0,020% e 0,025% m/m (com relação ao polímero), que foi reduzido por borohidreto de sódio em solução aquosa. Por espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-vis), foi observado a presença de nanopartículas de prata em solução devido a sua ressonância de plasmon de superfície. A partir de dados de reometria rotacional, foi observado o caráter predominantemente newtoniano das soluções poliméricas. Em termos gerais, a presença de nanopartículas de prata diminuiu a viscosidade da solução de poli(ácido láctico).

**Palavras-chave:** Poli(ácido láctico); nanopartículas de prata; reometria; Uv-vis.

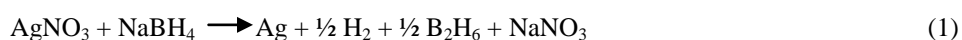
**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POLY (LACTIC ACID) SOLUTIONS  
CONTAINING SILVER NANOPARTICLES FOR SOLUTION BLOWING**

**Abstract:** In this work silver nanoparticles were synthesized in poly (lactic acid) solution. Silver nitrate was added at concentrations of 0%, 0.010%, 0.015%, 0.020% and 0.025% w/w (relative to the polymer), which was reduced by sodium borohydride in aqueous solution. Ultraviolet-visible absorption (UV-vis) absorption spectroscopy showed the presence of silver nanoparticles in solution due to their surface plasmon resonance. From rotational rheometry data, the predominantly Newtonian character of the polymeric solutions was observed. In general terms, the presence of silver nanoparticles decreased the viscosity of the poly (lactic acid) solution.

**Keywords:** Poly (lactic acid); silver nanoparticles; rheometry; Uv-vis.

**1. Introdução**

Nanopartículas de prata podem conferir propriedades óticas, elétricas e promover atividade antibacteriana, que são desejáveis em membranas filtrantes, embalagens, tecidos, entre outros. Sua principal rota de obtenção é por redução de sais de prata, pelo borohidreto de sódio em solução aquosa, como está demonstrado na reação química a seguir. Para esta reação, Mulfinger et al. (2007) demonstrou que a melhor razão molar entre NaBH<sub>4</sub> e AgNO<sub>3</sub> é de [2:1], onde se obtém uma suspensão coloidal estável.



Entender a reologia de sistemas poliméricos auxilia no processo de fiação por sopro em solução, visto que nesse processamento as soluções poliméricas estão sujeitas a altas velocidades e altas taxas de cisalhamento. Além disso, sabe-se que a concentração polimérica tem uma importante função no processo de fiação, assim como sua viscosidade, pois ela determina o número de



enrosocos mínimos para possibilitar a formação do fio contínuo, e, após o processamento, ela determina no diâmetro médio de fibras (Medeiros et al, 2009). Como a síntese de nanopartículas de prata em poli(ácido lático) (PLA) é pouco explorada, este trabalho tem como objetivo sintetizar nanopartículas de prata em solução de PLA e avaliar o comportamento reológico da solução quando incorporada à diversas concentrações de nanopartículas de prata.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Materiais

Neste trabalho foram utilizados para as soluções poliméricas o poli(ácido lático) (PLA) da Natureworks (Ingeo 3251D), diclorometano (99,5%), da Alphatec, e dimetilformamida (99,8%), da LS Chemicals. Para a obtenção de nanopartículas de prata foram utilizados nitrato de prata (99,8%), da Reatec, e borohidreto de sódio (>98%), da Vetec.

### 2.2. Metodologia

As soluções de PLA (12% m/v) foram obtidas utilizando os solventes diclorometano e dimetilformamida com relação de 9/1 v/v, respectivamente. Os pellets de PLA foram secos previamente em estufa por 2h a 45°C. A solubilização foi feita por 2h em agitação constante. O procedimento descrito a seguir foi baseado no método de Shameli et al (2010), onde soluções aquosas de nitrato de prata e borohidreto de sódio foram feitas em separado, para posterior mistura com a solução polimérica. A relação molar de  $\text{AgNO}_3$  e  $\text{NaBH}_4$  foi mantida em 1:2 mol, respectivamente, e a quantidade de água deionizada total a ser adicionada foi estipulada em 5 mL para cada 20 mL de solução polimérica. Após a completa solubilização do polímero nos solventes, a solução foi resfriada em gelo, que foi mantido até o final do processo de síntese. Após 40 min de resfriamento, houve a adição de solução aquosa de nitrato de prata, com quantidades de 0,010%; 0,015%; 0,020% e 0,025% m/m (relativa à massa de polímero), e, logo em seguida, a adição gota-a-gota da solução aquosa com borohidreto de sódio. A agitação em baixa temperatura prosseguiu por mais 1h30. Após esse processo, as soluções foram vertidas em placas de petri e colocadas em estufa com circulação de ar a 45°C, por 20 horas. A seguir, os filmes de PLA com nanopartículas de prata foram ressolubilizados em diclorometano, para se atingir a mesma concentração mencionada anteriormente de 12% m/v.

Em seguida, as soluções poliméricas foram analisadas por espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-vis), em um equipamento Shimadzu MultSpec-150, no intervalo de 300-800 nm. O perfil reológico das soluções também foi observado em um reômetro rotacional (Anton Paar Physica), onde a taxa de cisalhamento variou de 1 a 100  $\text{s}^{-1}$  a 25° C.

## 3. Resultados e Discussão

A partir do espectro de absorção no UV-vis das soluções de PLA com nanopartículas de prata, apresentado na Fig. 1a, foi possível observar a presença de uma banda de absorção perto de 400 nm, onde ocorre a ressonância de plasmon de superfície das nanopartículas de prata. Também foi observável que a absorbância nessa região aumentou à medida que a quantidade de nitrato de prata foi maior - o que garantiu que um número maior de nanopartículas foi produzido. Estes resultados estão em concordância com os estudos de Kim et al. (2010) e Shameli et al. (2010). Considerando que em 400 nm existe a presença das nanopartículas de menor tamanho (10-30 nm), foi feita uma curva de calibração de teor de nitrato de prata com  $R^2$  de 0,992. Os resultados estão expostos na Fig.1b.

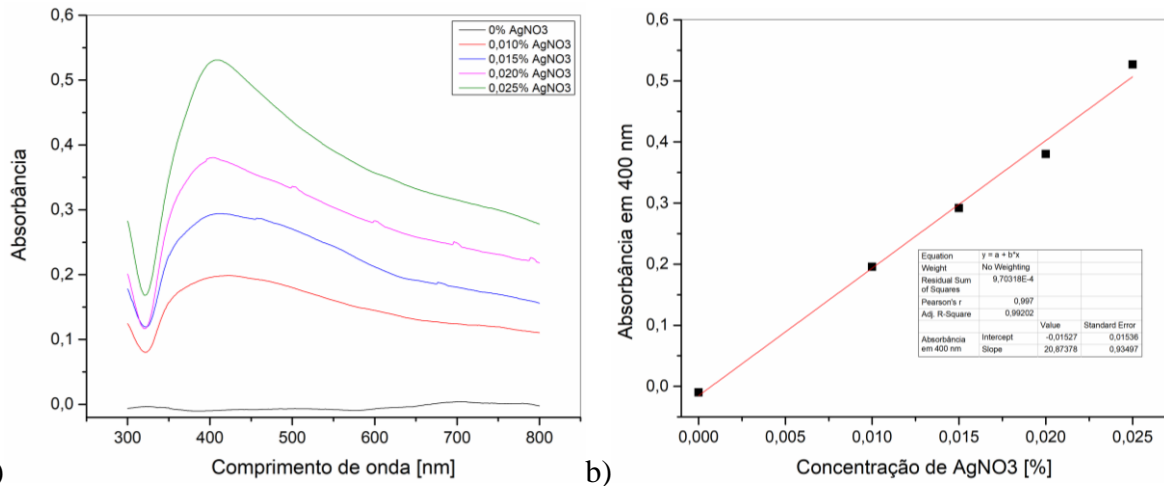


Figura 1. a) Espectros de absorção no UV-vis das nanopartículas de prata em solução de PLA para diversas concentrações. b) Curva de calibração de teor de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) por absorção no UV-vis.

A partir dos dados de reometria rotacional (Fig. 2a), é possível observar que as soluções poliméricas obtiveram comportamento newtoniano entre as taxas de 10 e 100 s<sup>-1</sup>. Também foi observado que as soluções com adição de nanopartículas de prata tiveram viscosidades menores que a solução de PLA sem adição de nitrato de prata, o que sugere que a presença das nanopartículas separam as moléculas, diminuindo os seus enrosocos. Esse resultado é corroborado com o trabalho de Cacciotti et al. (2014), onde a adição de nanopartículas de prata (1% m/m) em solução de PLA diminuiu a sua viscosidade dinâmica de 163 cP para 155 cP.

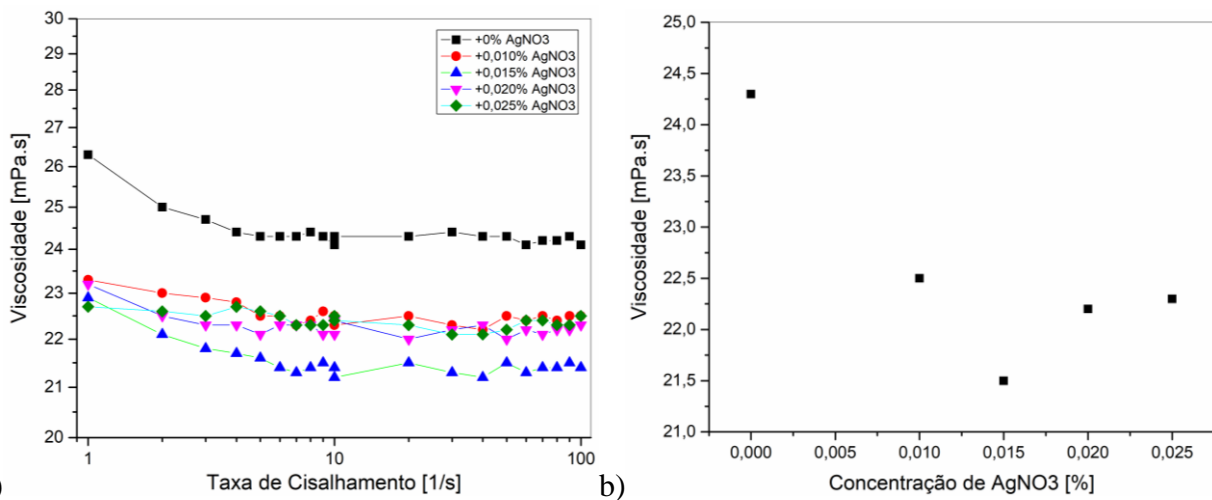


Figura 2. a) Viscosidade versus taxa de cisalhamento para diversas concentrações de nitrato de prata em solução de PLA. b) Valores de viscosidade versus concentração de nitrato de prata para a taxa de cisalhamento fixa de 90 s<sup>-1</sup>.

Ao fazer uma aproximação com um fluxo capilar isotérmico e newtoniano, temos que a taxa de cisalhamento na parede da agulha de um sistema de fiação por sopro em solução é cerca de 90 s<sup>-1</sup>, para uma taxa de injeção de 7 mL/h. Por conta disso, na Fig. 2b, a viscosidade das soluções nessa taxa de cisalhamento pode ser observada. Com relação aos pontos apresentados, há um tendência de diminuição da viscosidade com o aumento de nitrato de prata para as amostras com 0,010 e 0,015% de AgNO<sub>3</sub>. Considerando que o diclorometano apresenta ponto de ebulição baixo (39,6° C), a concentração de polímero pode ter aumentado nas amostras com 0,020 e 0,025% de AgNO<sub>3</sub>, e sua viscosidade também.

#### 4. Conclusões

Neste trabalho foram obtidas com êxito soluções de poli(ácido láctico) com nanopartículas de prata que foram produzidas in situ, por meio de reação de redução do sal nitrato de prata. A partir do espectro de absorvância no UV-vis, foi constatado que à medida que a adição de nitrato de prata aumentou, a banda de absorção foi maior, o que reflete a quantidade de nanopartículas formadas que também foi maior. Por conta disso, foi possível fazer um ajuste linear a fim de se obter uma curva de calibração relativa ao teor de nitrato de prata adicionada à solução polimérica. O ajuste foi feito com  $R^2=0,992$ , o que mostra boa correlação entre as variáveis. Com relação ao ensaio de reometria rotacional, foi verificado que as soluções poliméricas tiveram comportamento predominantemente newtoniano e que a adição de nanopartículas de prata diminuiu a viscosidade das soluções. Efeitos de evaporação de solvente foram verificados nas amostras de 0,020 e 0,015% m/m de  $AgNO_3$ , e por isso essas amostras não seguiram a tendência de diminuição de viscosidade com o aumento de nitrato de prata. Conclui-se que se utilizado em sistemas de fiação por sopro em solução, as nanopartículas de prata em solução de PLA podem ser utilizadas como redutores de viscosidade, ajustando-a a valores desejáveis.

#### Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. A autora também agradece ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia aplicada ao Agronegócio (LNNA) da Embrapa Instrumentação e Rede Agronano pela infraestrutura e equipamentos utilizados.

#### Referências

- CACCIOTTI, Ilaria et al. Effect of silver nanoparticles and cellulose nanocrystals on electrospun poly (lactic) acid mats: Morphology, thermal properties and mechanical behavior. **Carbohydrate polymers**, v. 103, p. 22-31, 2014.
- KIM, Eun Seon; KIM, Seong Hun; LEE, Chang Hwan. Electrospinning of polylactide fibers containing silver nanoparticles. **Macromolecular Research**, v. 18, n. 3, p. 215-221, 2010.
- MEDEIROS, Eliton S. et al. Solution blow spinning: A new method to produce micro-and nanofibers from polymer solutions. **Journal of applied polymer science**, v. 113, n. 4, p. 2322-2330, 2009.
- MULFINGER, Lorraine et al. Synthesis and study of silver nanoparticles. **Journal of chemical education**, v. 84, n. 2, p. 322, 2007.
- SHAMELI, Kamyar et al. Silver/poly (lactic acid) nanocomposites: preparation, characterization, and antibacterial activity. **International journal of nanomedicine**, v. 5, p. 573, 2010.

**FOSFINATOS NANOESTRUTURADOS DE BAIXA DIMENSIONALIDADE:  
CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DE POTENCIAIS SENSORES DE GASES DO  
EFEITO ESTUFA E DE ÍONS EM SOLUÇÃO**

L. F. B. Bim<sup>1,\*</sup>, A. A. Felix<sup>1</sup>, D. R. M. de Godoi<sup>1</sup>, L. A. Colnago<sup>2</sup>, M. A. Cebim<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UNESP, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química de Araraquara, Rua Prof. Francisco Degni, 55, Jardim Quitandinha, 14800-105, Araraquara, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa-Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, Centro, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: luis.bim@unesp.br

**Resumo:** O sensoriamento e quantificação de gases do efeito estufa (GEE) é uma ferramenta essencial tanto para o monitoramento da emissão destes GEE na atmosfera, quanto no manejo de resíduos empregados na digestão anaeróbia para produção de biogás como fonte de energia renovável. Em uma outra dimensão, propiciar a quantificação ou especiação de íons metálicos empregados na suplementação em bioprocessos (e.g., digestão anaeróbia) é de grande contribuição para estudos de biodisponibilidade de micronutrientes, quantidades adequadas e níveis de toxicidade para diferentes comunidades microbianas. Nesse sentido, faz-se relevante a confecção de sensores químicos capazes de fornecer propriedades de interesse de um dado analito, permitindo o monitoramento através de sinais elétricos e/ou ópticos. Difenilfosfinatos de terras raras ( $[\text{TR}(\text{dpp})_3]_n$ ) são potenciais candidatos para a construção de um sensor plurivalente para detecção de GEE e íons em solução. Estruturalmente, resultados provenientes das análises de microscopias eletrônicas (varredura e transmissão) propiciaram a concepção dos  $[\text{TR}(\text{dpp})_3]_n$  como nanoestruturas arquitetadas por fios ou bastões, com possíveis poros cilíndricos unidirecionais que percorrem toda a nanoestrutura; tal suposição é legitimada pela obtenção, nos estudos de fisissorção de gás nitrogênio, de isotermas do tipo V com *loop* de histerese H1.

**Palavras-chave:** baixa dimensionalidade, polímeros de coordenação, sensoriamento, terras raras

**LOW-DIMENSIONAL NANOSTRUCTURED PHOSPHINATES: STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF POTENTIAL SENSORS FOR GREENHOUSE GASES AND IONS IN SOLUTION**

**Abstract:** Greenhouse gases (GHG) sensing and quantification is an essential tool both for monitoring the emission of these GHG into the atmosphere and for managing the waste employed in anaerobic digestion for biogas production as a renewable energy source. In a different context, providing quantification or speciation of metal ions employed in bioprocess supplementation (e.g., anaerobic digestion) is a major contributor to studies of: micronutrient bioavailability, appropriate amounts and toxicity levels for different microbial communities. In this sense, it is relevant the manufacture of chemical sensors capable of providing properties of a given analyte, allowing such monitoring through electrical and/or optical signals. Rare earth diphenylphosphinates ( $[\text{TR}(\text{dpp})_3]_n$ ) are potential candidates for the development of a multipurpose sensor for detecting GHG and ions in solution. Structurally, results from electron microscopy analysis (scanning and transmission) led to the conception of  $[\text{TR}(\text{dpp})_3]_n$  as nanostructures engineered by wires or rods, with likely unidirectional cylindrical pores running through the entire nanostructure; this assumption is validated by obtaining, in nitrogen gas physisorption studies, type V isotherms with H1 hysteresis loop.

**Keywords:** low dimensionality, coordination polymer, sensing, rare earth

## 1. Introdução

A preocupação com as mudanças climáticas e a busca pela mitigação da emissão de gases do efeito estufa (GEE) tem aumentado consideravelmente na comunidade científica, que procura não só minimizar os impactos ambientais destes gases, mas também os transformar em fonte de energia renovável (ADAMS; MCMANUS, 2019). O resíduo das atividades agropecuárias é um exemplo de fonte de emissão de GEE, gerando principalmente metano, óxido nitroso e gás carbônico (PETERSEN et al., 2013). Emitido a partir de processos biológicos, como a degradação anaeróbia de matéria orgânica, da agricultura e da queima incompleta de combustíveis fósseis, o metano é a segunda maior fonte causadora do aquecimento global (CROW et al., 2019). O sensoriamento e quantificação de GEE como  $\text{CH}_4(\text{g})$ ,  $\text{NO}_2(\text{g})$  e  $\text{CO}_2(\text{g})$  é uma ferramenta essencial para o monitoramento da emissão destes gases na atmosfera, e no manejo de resíduos empregados na digestão anaeróbia para produção de biogás como fonte de energia renovável (MAHBUB et al., 2019).

Íons de metais são amplamente estudados na biologia estrutural e molecular por servirem como micronutrientes as mais diversas formas de vida. Íons metálicos são essenciais componentes de cofatores e enzimas, o que motiva diversos estudos da suplementação como meio de alcançar melhores resultados em processos biológicos (THANH et al., 2017). Estudos utilizando consórcios microbianos na degradação anaeróbia de resíduos orgânicos, empregam a suplementação de micronutrientes (e.g., Fe, Ni, Cu e Zn), que atuam como catalisadores de processos, como a fermentação e a metanogênese, e também são fixados na estrutura celular dos microrganismos (GUO et al., 2019).

A digestão anaeróbia assistida dentro de reatores propicia o manejo adequado de resíduos gerados por atividades humanas e gera produtos de valor agregado como o biogás ( $\text{H}_2(\text{g})$  e  $\text{CH}_4(\text{g})$ ). Almeja-se com a suplementação de micronutrientes um melhor aproveitamento na conversão da matéria orgânica, para se obter efluentes que atinjam os padrões de lançamento estabelecidos pela legislação, e melhores rendimentos de produção de biogás (ZHANG et al., 2019). O trabalho de desenvolvimento de sensores que possam ser empregados na quantificação ou até mesmo na especiação de íons metálicos é de grande contribuição para estudos como a biodisponibilidade de micronutrientes suplementados, quantidades adequadas e níveis de toxicidade (THANH et al., 2016).

É nesse contexto que se faz relevante a confecção de sensores químicos capazes de fornecer propriedades de interesse de um dado analito, permitindo seu monitoramento através de sinais elétricos e/ou ópticos. Especificamente, visa-se o desenvolvimento de um sensor para detecção de gases do efeito estufa e íons em solução.

Para tal, deseja-se ancorar polímeros de coordenação nanoestruturados unidimensionais baseados em cátions trivalentes de terras raras e o ligante organofosforado difenilfosfinato (i.e., difenilfosfinatos de terras raras –  $[\text{TR}(\text{dpp})_3]_n$ ) em diferentes plataformas sensores modificadas ou não (i.e., ouro e/ou carbono vítreo). Ademais, compreender o mecanismo de crescimento dos nanofios que compõem os  $[\text{TR}(\text{dpp})_3]_n$ , a influência dos diferentes parâmetros de síntese nas suas propriedades morfológicas e estruturais, os mecanismos envolvidos na formação dessas nanoestruturas e avaliar o comportamento dos polímeros de coordenação suportados em plataformas modificadas ou não (i.e., ouro e carbono vítreo, decoradas ou não) são requisitos fundamentais para, de fato, se conseguir confeccionar um sensor multifuncional.

## 2. Materiais e Métodos

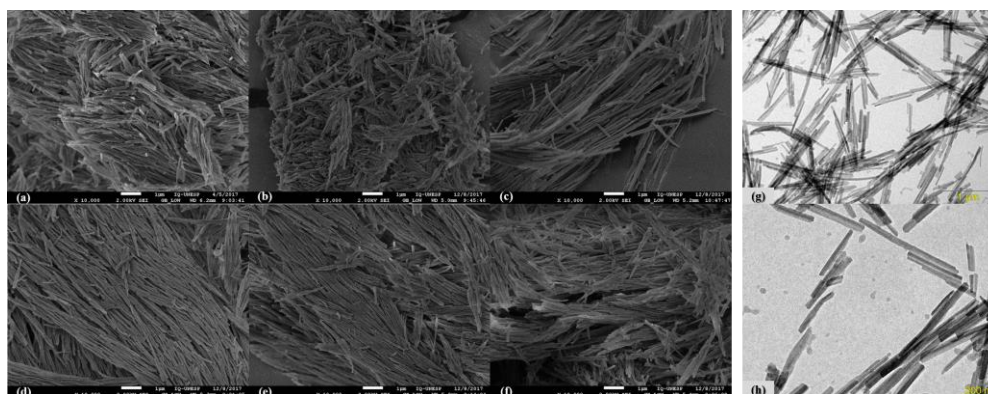
A síntese dos compostos de coordenação envolvendo cátions trivalentes de terras raras e o ligante organofosforado difenilfosfinato foi realizada através de 4 diferentes metodologias de precipitação por via úmida, descritas por Bim; Stucchi e Cebim (2018) e Bim (2018): síntese de precipitação por via úmida, PVU; assistida por ultrassom, U-PVU; assistida por modulador, M-PVU; com tratamento solvotérmico, S-PVU.

### 3. Resultados e Discussão

A literatura concebe os difenilfosfinatos de terras raras,  $[\text{TR}(dpp)_3]_n$ , como materiais policristalinos em um arranjo polimérico. Bim; Stucchi e Cebim (2018) e Bim (2018) caracterizaram tais materiais como polímeros de coordenação luminescentes nanoestruturados 1D1, isoestruturais, com partículas em formato de nanofios/nanobastões, altamente insolúveis e que não produzem monocristais. No tocante à morfologia, as imagens de SEM-FEG (Figura 2 (a-f)) revelaram controle da forma e tamanho das partículas dos  $[\text{TR}(dpp)_3]_n$  em função da metodologia de precipitação empregada.

Contudo, imagens de baixa magnificação de TEM (Figura 2 (g-h)) indicam que os  $[\text{TR}(dpp)_3]_n$  originam um sistema organizado, formado muito provavelmente por nanofibras monocristalinas; este resultado, embora preliminar, é inédito e revela que cada nanobastão/nanofio corresponde – individualmente – a um monocristal, que, quando macerados e submetidos a análises de XRD de pó fornecem o comportamento do material como um todo, apontando para uma estrutura policristalina.

Tais características levantam a necessidade de uma investigação por TEM mais aprofundada (i.e., HRTEM e técnicas complementares), o que permitirá responder como esses materiais luminescentes nanoestruturados de baixa dimensionalidade crescem através de uma rápida precipitação por via úmida sem o uso de qualquer agente de ordenamento espacial.



Legenda: imagens SEM-FEG @ 10.000x do composto  $[\text{Eu}(dpp)_3]_n$  obtido via (a) PVU, (b) U-PVU, (c) S-PVU, (d) M-PVU 1:100  $\text{Eu}^{3+}$ :Agente modulador, (e) M-PVU 1:500  $\text{Eu}^{3+}$ :AM, (f) M-PVU 1:1.000  $\text{Eu}^{3+}$ :AM, e (g,h) imagens TEM do composto PVU  $[\text{Eu}(dpp)_3]_n$ . Fonte: (a-f) BIM, 2018; (g-h) obra do autor (2019).

Figura 2. Imagens SEM-FEG e TEM do composto  $[\text{Eu}(dpp)_3]_n$ .

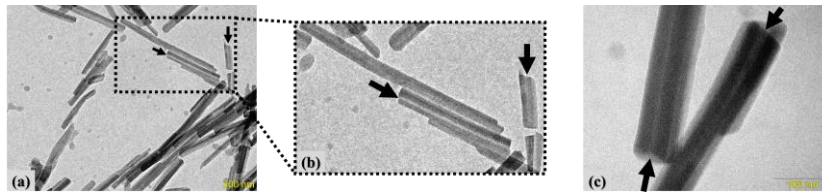
Ademais, possíveis canais (Figura 3) idealizam a existência de poros cilíndricos unidirecionais percorrendo toda a estrutura da nanoestrutura. De fato, tal observação corrobora os resultados provenientes das caracterizações de superfície via isotermas de adsorção/dessorção de gás nitrogênio para os PVU  $[\text{TR}(dpp)_3]_n$ .

O formato de tais isotermas (Figura 4), inicialmente convexas ao eixo  $p/p_0$  e estabilizadas a altas pressões relativas, é reflexo de interações fracas adsorvente-adsorbato em um sólido mesoporoso e podem ser classificadas como isotermas de fisissorção do tipo V (BATTEN et al., 2013; ROUQUEROL et al., 2014). Exibem *loop* de histerese do tipo H1 na faixa de multicamada, que está associado ao preenchimento e esvaziamento dos poros, i.e., condensação capilar (BATTEN et al., 2013); *loops* do tipo H1 são estreitos, com ramos de adsorção/dessorção íngremes e praticamente paralelos (ROUQUEROL et al., 2014).

A existência de *loops* de histerese do tipo H1 é explicada pela condensação tardia no ramo da adsorção, i.e., existência de estados metaestáveis do fluido no poro, associados à nucleação da fase líquida (BATTEN et al., 2013; LOWELL et al., 2004). Em sólidos mesoporosos com poros largos, a condensação espontânea espinodal ocorre quando a multicamada metaestável se torna instável, enquanto que no caminho da dessorção não há estados metaestáveis, uma vez que a evaporação ocorre sob condições de coexistência líquido-vapor (ROUQUEROL et al., 2014).

O comportamento característico de cada tipo de *loop* de histerese está intimamente

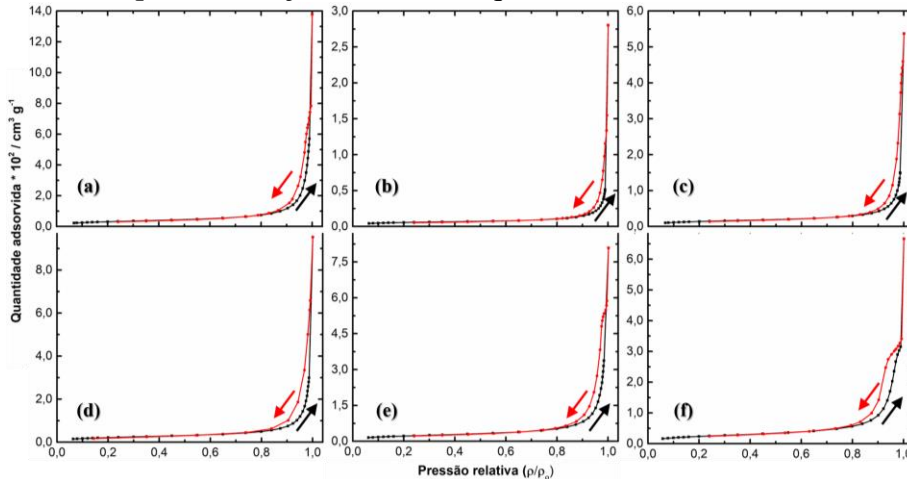
associado a certas estruturas bem-definidas de poros. No caso, *loops* H1 são produzidos por adsorventes com uma estreita distribuição de poros uniformes (e.g., poros tubulares abertos independentes), indicando uniformidade de tamanho (BATTEN et al., 2013; ROUQUEROL et al., 2014).



Legenda: imagens TEM do composto PVU [Eu(dpp)<sub>3</sub>]<sub>n</sub>, com (a) escala de 200 nm, (b) destaque para região e (c) escala de 100 nm. Setas pretas apontam para os prováveis canais. Fonte: obra do autor (2019).

Figura 3. Prováveis canais formadores de poros cilíndricos unidirecionais.

Os tamanhos de poro foram obtidos através do modelo de Barret-Joyner-Halenda, BJH. Uma vez que as isotermas (Figura 4) apresentam *loop* de histerese do tipo H1 – devido a metaestabilidade da multicamada e condensação capilar atrasada – tomou-se o ramo da dessorção para fins do cálculo do tamanho do poro (ROUQUEROL et al., 2014); o ramo da dessorção do *loop* de histerese reflete uma *quasi*-transição de fase no equilíbrio.



Legenda: (a) [Y(dpp)<sub>3</sub>]<sub>n</sub>, (b) [La(dpp)<sub>3</sub>]<sub>n</sub>, (c) [Eu(dpp)<sub>3</sub>]<sub>n</sub>, (d) [Gd(dpp)<sub>3</sub>]<sub>n</sub>, (e) [Er(dpp)<sub>3</sub>]<sub>n</sub> e (f) [Lu(dpp)<sub>3</sub>]<sub>n</sub>. As direções indicadas pelas setas pretas e vermelhas designam, respectivamente, as isotermas de adsorção e de dessorção. Fonte: obra do autor (2019).

Figura 4. Isotermas de adsorção e dessorção de gás nitrogênio em [TR(dpp)<sub>3</sub>]<sub>n</sub> obtidos via PVU.

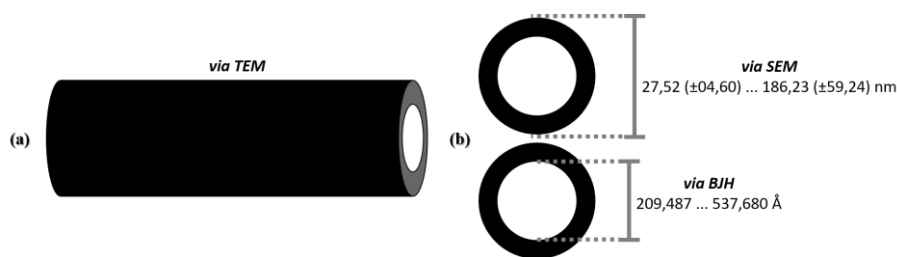
Os valores de  $\overline{\Theta}_p^{BJH}$  para os PVU [TR(dpp)<sub>3</sub>]<sub>n</sub> (Tabela 1) estão na faixa de mesoporos (poros de largura interna entre 2 e 50 nm), variando entre ~21 e 52 nm. Constata-se, também, que o tamanho médio de poro é influenciado pelo raio iônico (RaI) dos íons terras raras trivalentes, i.e., quanto menor o RaI dos TR<sup>3+</sup>, menor o  $\overline{\Theta}_p^{BJH}$  apresentado pelos fios/bastões que compõem as nanoestruturas.

Tabela 1. Tamanho médio dos poros presentes nos PVU [TR(dpp)<sub>3</sub>]<sub>n</sub>.

Composto	TR <sup>3+</sup>	Raio iônico / Å	$\overline{\Theta}_p^{BJH}$ / Å
[Lu(dpp) <sub>3</sub> ] <sub>n</sub>	Lu <sup>3+</sup>	0,861	209,487
[Er(dpp) <sub>3</sub> ] <sub>n</sub>	Er <sup>3+</sup>	0,890	363,013
[Y(dpp) <sub>3</sub> ] <sub>n</sub>	Y <sup>3+</sup>	0,900	375,416
[Gd(dpp) <sub>3</sub> ] <sub>n</sub>	Gd <sup>3+</sup>	0,938	394,053
[Eu(dpp) <sub>3</sub> ] <sub>n</sub>	Eu <sup>3+</sup>	0,947	537,680
[La(dpp) <sub>3</sub> ] <sub>n</sub>	La <sup>3+</sup>	1,032	516,239

Nota:  $\overline{\Theta}_p^{BJH}$ , diâmetro médio dos poros obtido via modelo de Barret-Joyner-Halenda (BJH), considerando-se a isoterma de dessorção; raios iônicos apresentados considerando-se uma coordenação octaédrica. Fonte: obra do autor (2019).

Bim; Stucchi e Cebim (2018) e Bim (2018) relataram controle do tamanho e forma das partículas dos  $[\text{TR}(\text{dpp})_3]_n$  em função das diferentes metodologias empregadas em suas sínteses. Frente a tais evidências, é possível conceber um modelo hipotético (Figura 5) capaz de representar as nanoestruturas formadoras dos difenilfosfinatos de terras raras.



Legenda: (a) vista lateral e (b) vista superior. Fonte: obra do autor (2019).

Figura 5. Modelo hipotético das dimensões (comprimento e diâmetro) das partículas e dos poros presentes nos  $[\text{TR}(\text{dpp})_3]_n$ .

#### 4. Conclusões

Os resultados provenientes das análises de SEM propiciaram a concepção dos  $[\text{TR}(\text{dpp})_3]_n$  como nanoestruturas arquitetadas por fios ou bastões. Contudo, evidências a partir das análises de TEM permitem supor a existência de poros cilíndricos unidirecionais percorrendo toda a nanoestrutura, i.e., os fios/bastões não são internamente preenchidos; tal suposição é legitimada pelas isotermas do tipo V com *loop* de histerese H1, obtidas nos estudos de adsorção/dessorção de gás nitrogênio. Como prosseguimento deste trabalho, busca-se (i) compreender os mecanismos de formação dos compostos da série dos  $[\text{TR}(\text{dpp})_3]_n$ , caracterizando os intermediários de reação e estudando a cinética e termodinâmica de formação envolvidas na precipitação dos difenilfosfinatos de terras raras e (ii) avaliar o comportamento dos polímeros de coordenação suportados em plataformas (i.e., ouro e carbono vítreo, decoradas ou não), caracterizando-os eletroquimicamente, monitorando a ancoragem material-plataforma e testando suas atividades sensores para os analitos de interesse em solução ou fase gasosa.

#### Agradecimentos

CAPES e CNPq – Agências Brasileiras.

#### Referências

- ADAMS, P. W. R.; MCMANUS, M. C. Characterisation and variability of greenhouse gas emissions from biomethane production via anaerobic digestion of maize. **Journal of Cleaner Production**, v. 218, p. 529–542, maio 2019.
- BATTEN, S. R. et al. Terminology of metal–organic frameworks and coordination polymers (IUPAC Recommendations 2013). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 8, p. 1715–1724, 31 jan. 2013.
- BIM, L. F. B. **Estrutura e propriedades ópticas de difenilfosfinatos de terras raras**. 2018. 75 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2018.
- BIM, L. F. B.; STUCCHI, E. B.; CEBIM, M. A. A new overview on rare earth diphenylphosphinates: Europium characteristic luminescence of low dimensional nanostructured materials. **Journal of Luminescence**, v. 203, p. 105–112, nov. 2018.
- CROW, D. J. G. et al. Assessing the impact of future greenhouse gas emissions from natural gas production. **Science of The Total Environment**, v. 668, p. 1242–1258, jun. 2019.
- GUO, Q. et al. Heavy metals interact with the microbial community and affect biogas production in anaerobic digestion: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 240, p. 266–272, jun. 2019.
- LOWELL, S. et al. **Characterization of Porous Solids and Powders: Surface Area, Pore Size and Density**. 1. ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2004. v. 16
- MAHBUB, N. et al. The life cycle greenhouse gas emission benefits from alternative uses of



- biofuel coproducts. **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, v. 34, p. 173–186, ago. 2019.
- PETERSEN, S. O. et al. Manure management for greenhouse gas mitigation. **animal**, v. 7, n. s2, p. 266–282, 6 jun. 2013.
- ROUQUEROL, J. et al. **Adsorption by Powders and Porous Solids: Principles, Methodology and Applications**. 2. ed. San Diego: Academic Press (Elsevier Ltd), 2014.
- THANH, P. M. et al. Trace metal speciation and bioavailability in anaerobic digestion: A review. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 2, p. 122–136, mar. 2016.
- THANH, P. M. et al. Effects of trace metal deficiency and supplementation on a submerged anaerobic membrane bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 161–170, out. 2017.
- ZHANG, W. et al. Mechanism of process imbalance of long-term anaerobic digestion of food waste and role of trace elements in maintaining anaerobic process stability. **Bioresource Technology**, v. 275, p. 172–182, mar. 2019.

**PRODUÇÃO DE NANOCELULOSE INTEGRADA A OBTENÇÃO DE ETANOL 2G A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**Bondancia, T.J.<sup>1,3,\*</sup>, Aguiar, J. de<sup>2,3</sup>, Mattoso, L.H.C.<sup>2,3</sup>, Marconcini, J.M.<sup>2,3</sup>, Farinas, C.S.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, Programa de pós-graduação em Engenharia Química, Rod. Washington Luís, km 235, 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos, Programa de pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Rod. Washington Luís, km 235, 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), São Carlos, SP, Brasil

\* Autor correspondente, e-mail: thalitajkb@gmail.com

**Resumo:** A produção de materiais nanocelulósicos de alto valor pode contribuir significativamente para a viabilidade econômica geral das biorrefinarias. A nanocelulose pode ser obtida da fase sólida do bagaço de cana por diferentes métodos, como rota mecânica, ácida e enzimática. A lignina e a hemicelulose devem ser extraídas para isolar a celulose e facilitar a produção de nanocelulose. Este trabalho avaliou a obtenção de nanocelulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar. O bagaço de cana in natura foi submetido a um tratamento hidrotérmico (195°C, 10 minutos) e hidrolisado com 15% do teor de sólidos e enzima Cellic Ctec 3 (novozymes). A concentração de glicose e a conversão de celulose foram determinadas no decorrer da reação por até 48 h. A concentração máxima de glicose liberada foi de 53,95 g / L e 59,68% de conversão de celulose. A metodologia de produção de nanocelulose empregou tratamento com organossolv, seguido de purificação com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e subsequentes testes de hidrólise enzimática. A obtenção de nanocelulose pelo bagaço de cana-de-açúcar poderia ser um processo integrado para produzir açúcares solúveis, mostrando-se muito promissor do ponto de vista da sustentabilidade e, portanto, poderia potencialmente contribuir para a implementação de futuras biorrefinarias.

**Palavras-chave:** Nanocelulose, etanol de segunda-geração, hidrólise enzimática, biorrefinaria.

**PRODUCTION OF INTEGRATED NANOCELLULOSIS TO OBTAIN ETHANOL 2G FROM SUGAR CANE BAGASSE**

**Abstract:** The production of high-value nanocellulosic materials can significantly contribute to the overall economic viability of the biorefineries. Nanocellulose can be obtained from solid phase of sugarcane bagasse by different methods like mechanical, acid and enzymatic route. The lignin and hemicellulose should be extracted to isolate cellulose and facilitate of nanocellulose production. This work evaluated the obtaining the nanocellulose by sugarcane bagasse. The raw sugarcane bagasse was submitted to hydrothermal treatment (195°C, 10 minutes) and was hydrolyzed using 15% of solid contents and enzyme Cellic Ctec 3. The glucose concentration and cellulose conversion were determined during the course of the reaction up to 48 h. The maximum concentration of glucose released was 53.95 g/L and 59.68% of cellulose conversion. The methodology of production of nanocellulose employed organosolv treatment followed by purification with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and subsequent tests of enzymatic hydrolysis. The obtaining of nanocellulose by sugarcane bagasse could be integrated process to produce soluble sugars showing to very promising from the sustainability stand point and, therefore, could potentially contribute to the implementation of future biorefineries.

**Keywords:** Nanocellulose, second generation ethanol, enzymatic hydrolysis, biorefinery.

## 1. Introdução

A demanda por produtos de característica sustentável é incentivada pela necessidade de minimizar os impactos causados pelo homem no meio ambiente, o que motiva pesquisas com fontes renováveis ou precursores ambientalmente corretos. Neste contexto, as biorrefinarias tem como objetivo a produção de biocombustíveis, bioprodutos e novos materiais, tendo em vista o uso de biomassas lignocelulósicas.

Independente da fonte, fibras celulósicas podem ser desintegradas por diferentes processos em estruturas com menor dimensão e alto valor agregado, incluindo nanocristais de celulose (NCC) e nanofibras de celulose (NFC) (KLEMM; KRAMER; MORITZ; LINDSTROM et al., 2011). Buscando englobar o conceito de biorrefinaria, a produção de nanocelulose pode ser integrada à geração de etanol, o que auxilia na viabilização econômica de ambas as rotas e permite agregar valor a um resíduo agroindustrial como o bagaço de cana, por exemplo. Assim, este trabalho apresenta um processo de aproveitamento do bagaço de cana-de-açúcar para produção integrada de nanocelulose e glicose visando a obtenção de etanol de segunda-geração (2G).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. *Pré- tratamento do bagaço de cana-de-açúcar*

O bagaço de cana foi doado pela usina Ipiranga (Descalvado) e posteriormente submetido a um processo hidrotérmico para remoção de hemicelulose em reator Parr a 195°C, 10 minutos, 200 rpm. O material tratado (celulignina) foi lavado até pH neutro. Na celulignina foi aplicado um tratamento Organosolv para remoção de lignina em reator Parr a 190°C, 90 minutos, 200 rpm. A fração sólida foi lavada até pH neutro, seco em estufa e posteriormente submetido a um processo de branqueamento. Para branqueamento, empregou-se uma mistura de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em 5% (v/v) e hidróxido de sódio (NaOH) 4% (m/v). O material final foi lavado até pH neutro e seco em estufa.

### 2.2. *Produção de glicose e nanocelulose*

O bagaço tratado foi submetido a hidrólise enzimática em teor de sólidos de 15% e carga de enzima de 10 FPU/ g biomassa em tampão citrato de sódio (0,1 M pH 5) durante 96h em reator do tipo tanque agitado. Após este tempo, a fração sólida (nanocelulose) foi separada da fração líquida (glicose) por um centrifugação. Após a separação o sólido foi lavado e centrifugado para remoção da glicose residual.

### 2.3. *Caracterizações*

Após a hidrólise enzimática, a glicose foi quantificada usando um Kit comercial GOD-POD (labtest) seguindo as especificações do fabricante.

A fração sólida foi caracterizada por difração de raio X (DRX) com ângulo de bragg ( $2\theta$ ) variando 5° a 40° com taxa de 2°/ min em difratômetro Shimadzu 6000 (Shimadzu Co., Japão) operado com radiação Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1,54\text{\AA}$ ), tensão de 30 kV e corrente de 30 mA. A cristalinidade foi avaliada pela deconvolução usando funções Gaussianas e calculada pela relação da área cristalina sob amorfa. A estabilidade coloidal da suspensão foi analisada por espalhamento de luz dinâmico (DLS) e tamanho médio aparente em um equipamento Malvern 3000 Zetasizer NanoZS. Este equipamento usa espalhamento dinâmico de luz para medir a difusão de partículas que se movem sob movimento browniano e fornece o tamanho médio de partícula (ZD) e o índice de polidispersidade (PDI).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. *Pré-tratamento*

A etapa de pré-tratamento consiste na remoção de componentes não celulósicos, visando melhorar os processos de hidrólise enzimática. Na Figura 1 é apresentada a fibra após cada etapa de tratamento.

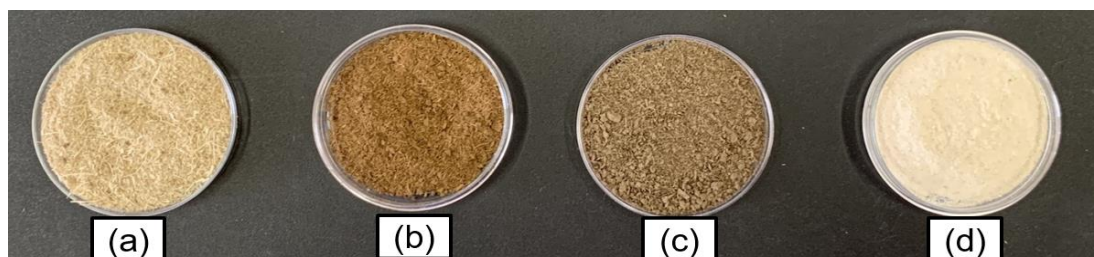


Figura 6. Fibras de bagaço de cana-de-açúcar (a) In natura (b) Hidrotérmico (c) Organosolv (d) branqueada com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e NaOH

A remoção de hemicelulose e lignina é de fundamental importância para melhorar os rendimentos de hidrólise enzimática e liberação de glicose. A presença inibidores derivados da degradação da hemicelulose ou lignina interfere negativamente na etapa de hidrólise enzimática, resultando em ineficientes conversões (KO; XIMENES; KIM; LADISCH, 2015). Assim, um pré-tratamento eficiente interfere nas etapas subsequentes do processo de produção de etanol e nanocelulose. O tratamento aqui realizado resultou em teores finais de celulose de  $89,42\% \pm 0,66$  em contrapartida aos  $46,55 \pm 0,33$  do bagaço in natura, mostrando que o tratamento resultou em um considerável aumento no teor de celulose e consequente redução nos teores de lignina e hemicelulose.

### 3.2. Hidrólise enzimática para obtenção de glicose e nanocelulose

A hidrólise enzimática foi feita no bagaço de cana branqueado em teor de sólidos de 15% durante 96h. Após este tempo, a máxima concentração de glicose produzida foi de  $96,2 \text{ g/L} \pm 2,74$  com conversão de  $61,2\% \pm 2,74$ . Os valores aqui obtidos encontram-se próximos da concentração mínima para favorecer economicamente os processos de destilação na produção de etanol, que é de 100 g/L (XIMENES; KIM; MOSIER; DIEN *et al.*, 2010).

A obtenção de nanocelulose foi posteriormente avaliada, visando um processo de integração. Assim, na Figura 2 são apresentados os difratogramas de raio-x do bagaço após a etapa de branqueamento e posterior a hidrólise enzimática.

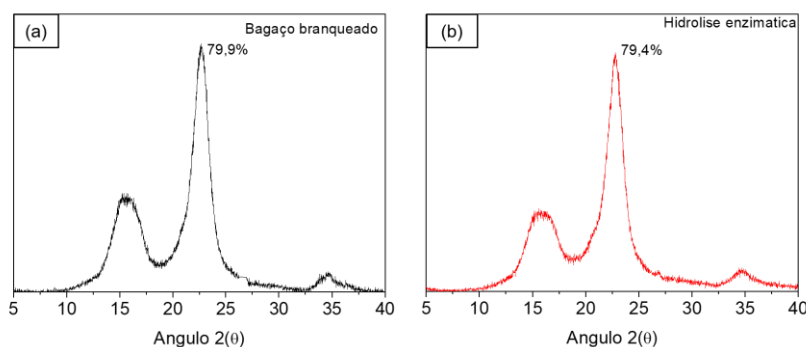


Figura 7. Difratograma de raio-x (a) bagaço branqueado; (b) sólido residual da hidrólise enzimática

Após a etapa de hidrólise enzimática o sólido residual manteve os valores de índice de cristalinidade, mantendo o aspecto característico de celulose tipo I, com planos característicos em  $2\theta = 15^\circ$  (plane 101),  $17^\circ$  (plane 10 $\bar{1}$ ),  $21^\circ$  (plane 021),  $23^\circ$  (plane 002) and  $34^\circ$  (plane 004) (PARK; BAKER; HIMMEL; PARILLA *et al.*, 2010), indicando que a hidrólise não afetou a estrutura cristalina do material.

Por fim, para avaliar mudanças no tamanho médio aparente, a suspensão contendo nanocelulose foi submetida análise de espalhamento de luz dinâmico (DLS). Os resultados de DLS não podem ser diretamente associados ao comprimento e diâmetro das nanopartículas, porém o tamanho médio aparente e o índice de polidispersividade (PDI) podem ser usados como uma

medida relativa (MOON; MARTINI; NAIRN; SIMONSEN et al., 2011). Aqui, os valores foram de  $532,0 \pm 33,8$  nm de tamanho médio aparente e  $0,75 \pm 0,09$  de PDI. O tamanho médio aparente pode ser usado para uma comparação aproximada do tamanho das nanopartículas em diferentes amostras analisadas da mesma forma. Por outro lado, PDI indica o grau de homogeneidade de tamanho em cada amostra. Um valor mais próximo de 1 de PDI indica uma ampla distribuição de tamanho, enquanto amostras monodispersas têm valor zero de PDI (NOVO; BRAS; GARCIA; BELGACEM et al., 2015).

#### 4. Conclusões

O presente trabalho mostra que foi possível extrair nanocelulose integrada a elevadas concentrações de glicose para obtenção de etanol. Através da análise de raio-X, observou-se que inicialmente a reação enzimática não degradou as estruturas cristalinas da celulose, favorecendo a produção de nanoestruturas. Por fim, o tamanho médio aparente revelou estruturas na escala nanométrica, além disso o índice de polidispersividade revelou estruturas com ampla distribuição de tamanho.

#### Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. FAPESP, CNPQ.

#### Referências

- KLEMM, D.; KRAMER, F.; MORITZ, S.; LINDSTROM, T. *et al.* Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials. **Angewandte Chemie-International Edition**, 50, n. 24, p. 5438-5466, 2011. Review.
- KO, J. K.; XIMENES, E.; KIM, Y.; LADISCH, M. R. Adsorption of Enzyme Onto Lignins of Liquid Hot Water Pretreated Hardwoods. **Biotechnology and Bioengineering**, 112, n. 3, p. 447-456, 2015.
- MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J. *et al.* Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, 40, n. 7, p. 3941-3994, 2011.
- NOVO, L. P.; BRAS, J.; GARCIA, A.; BELGACEM, N. *et al.* Subcritical Water: A Method for Green Production of Cellulose Nanocrystals. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 3, n. 11, p. 2839-2846, Nov 2015.
- PARK, S.; BAKER, J. O.; HIMMEL, M. E.; PARILLA, P. A. *et al.* Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. **Biotechnology for Biofuels**, 3, May 2010.
- XIMENES, E.; KIM, Y.; MOSIER, N.; DIEN, B. *et al.* Inhibition of cellulases by phenols. **Enzyme and Microbial Technology**, 46, n. 3-4, p. 170-176, 2010.

**ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DAS FIBRAS DE CRISOTILA A PARTIR DO  
TRATAMENTO COM ÁCIDO OXÁLICO**R. Borges<sup>1,\*</sup>, R. Klaic<sup>1,2</sup>, R. P. Calegari<sup>3</sup>, C. Ribeiro<sup>1</sup>, C. S. Farinas<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP, Brazil<sup>2</sup> Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, km 235, 13565-905, São Carlos, SP, Brazil<sup>3</sup> Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Av. Centenário, 303, 13416-000, Piracicaba, SP, Brazil.

\* Autor correspondente, e-mail: Iroger.borges@gmail.com

**Resumo:** A crisotila, ou amianto branco, é um magnésio hidratado fibrossilicato com a formulação ideal  $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$ , um argilomineral organizado na forma de nanotubos, embalados em feixes formando fibras macroscópicas. Muitos produtos (por exemplo, telhas de fibrocimento) contêm crisotila em sua composição, o que representa um potencial risco, pois estes materiais podem liberar as fibras de crisotila pelo seu manuseio ou armazenamento inadequado. As fibras de crisotila quando presentes no ambiente ou em suspensão no ar podem causar riscos à saúde, uma vez que estão ligadas a doenças pulmonares como câncer. Portanto, existe a necessidade de promover o tratamento da crisotila residual desses materiais. Atualmente, o processo mais utilizado para destruir as fibras de crisotila é o tratamento térmico, hidrotérmico e utilização de ácidos inorgânicos fortes. Entretanto, estes processos apresentam um elevado custo e gasto energético. Neste estudo, propomos um tratamento alternativo utilizando o ácido oxálico. Uma solução de ácido oxálico (1 Molar) foi preparada e posteriormente a crisotila foi adicionada, o tratamento foi permaneceu por 30 dias sob agitação. Os resultados mostraram que o tratamento da crisotila com ácido oxálico foi eficiente para destruir totalmente as fibras de crisotila e sua estrutura química característica.

**Palavras-chave:** Poluição ambiental, Tratamento de resíduos, Ácidos orgânicos, Fertilizantes.

**STUDY OF CHRYSOTYLE DEGRADATION USING OXALIC ACID**

**Abstract:** Chrysotile, or white asbestos, is a hydrous magnesium fibrosilicate with the ideal formulation  $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$ , a clay mineral organized in the form of nanotubes, packaged in bundles forming macroscopic fibers. Many products (eg. asbestos cement) contain chrysotile fiber in their composition, which is a potential hazard, since these materials may release chrysotile fibers through improper handling or storage. Chrysotile fibers when present in the environment or in air can cause health risks, since they are linked to lung diseases such as cancer. Therefore, there is a need to promote the treatment of residual chrysotile of these materials. Currently, the most widely used method to destroy chrysotile fibers is thermal treatment, hydrothermal and use of strong inorganic acids. However, these processes have a high cost and high-energy expenditure. In this study, we propose an alternative treatment using oxalic acid. An oxalic acid solution (10 wt.%) was prepared and afterwards the chrysotile was added, the treatment was carried out for 30 days under stirring. The results showed that chrysotile treatment with oxalic acid was efficient to totally destroy chrysotile fibers and their characteristic chemical structure.

**Keywords:** Environmental pollution, Waste treatment, Organic acids, Fertilizers.

**1. Introdução**

O crisotila, ou amianto branco, é um magnésio hidratado fibrossilicato com a formulação ideal  $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$ , um argilomineral organizado na forma de nanotubos, embalados em feixes

formando fibras macroscópicas (LAFAYA et al., 2012; KORYTKOVAET et al., 2004; BALES e MORGAN, 1985). O uso do crisotila tem sido proibido em muitos países devido ao risco à saúde, uma vez que está ligada com doenças pulmonares como câncer (KORYTKOVA et al., 2004; DONALDSON e TRAN, 2004; BERNSTEIN et al., 2015; GUALTIERI et al., 2009). Os produtos que contêm crisotila representam um potencial risco, pois podem liberar as fibras de crisotila pelo seu manuseio ou armazenamento inadequado. Os produtos que possuem crisotila em sua composição incluem telhas de fibrocimento e reservatórios de água, que precisam ser substituída periodicamente. Após o uso estes resíduos precisam ser estocados em locais apropriados ou tratados. A literatura relata muitos métodos diferentes para destruir ou remover a toxicidade de resíduos de amianto contendo crisotila (SPASIANO e PIROZZI, 2017). O tratamento térmico e hidrotérmico são os mais eficientes e comumente aplicados, mas como altas temperaturas e / ou uso de ácidos fortes aumenta o custo de tratamento desse resíduo, no último caso, o excesso de ácido precisa ser neutralizado antes do descarte no meio ambiente (KUSIOROWSKI et al., 2013; NAM et al., 2014; ANASTASIADOU et al., 2010; BELARDI e PIGA, 2013). Uma abordagem alternativa mais ecologicamente correta que também pode ser utilizada para o tratamento de crisotila, e portanto, de artefatos de fibrocimento, é o uso de ácidos orgânicos combinados ou não processos paralelos, o tratamento promove principalmente a lixiviação da camada tetraédrica de magnésio ligado a hidroxilas, solubilizando o material e produzindo sílica amorfa. No caso do tratamento da telha de amianto devido sua composição complexa, e alta concentração de calcita ( $\text{CaCO}_3$ ) propicia a formação de outros produtos como, por exemplo, o oxalato de cálcio, que pode ser então utilizado em outros processos e aplicações, como fertilizantes. O material líquido resultante do tratamento da crisotila é rico em magnésio e cálcio, dois macronutrientes utilizado na agricultura para nutrição de plantas.

Preocupando-se com o desenvolvimento de metodologias e produtos que respeitem o estado de resiliência sócio-ecológica (FARLEY e VOINOV, 2016), o presente estudo teve como objetivo desenvolver uma estratégia para promover o tratamento da crisotila utilizando um ácido orgânico para destruir a principal estrutura química característica da crisotila, e assim eliminar sua toxicidade. Portanto, este estudo preliminar apresenta o comportamento de lixiviação de magnésio da estrutura de crisotila pela ação de ácido oxálico. O comportamento de lixiviação foi sistematicamente estudado e os materiais residuais foram analisados após 30 dias de contato com a solução ácida. O teor de magnésio foi obtido usando acoplamento indutivo espectroscopia de absorção atômica de chama (EAA de Chama). E os resíduos sólidos foram caracterizados por difração de raios X (DRX) para analisar a destruição da estrutura de crisotila pela ácido do ácido oxálico.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Materiais

A crisotila de comprimento abaixo de 2,0 mm (SAMA7ML) ( $\text{Mg}_3\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ) foi doada pela SAMA S/A Mineração Associadas (Minaçu - GO, Brasil). O ácido oxálico (99% de pureza em massa) utilizado foi obtido de Synth (Brasil).

### 2.2. Experimento de degradação

Para avaliar o efeito do ácido oxálico na destruição das fibras de crisotila, um experimento foi conduzido adicionando-se fibras de crisotila a uma solução de ácido oxálico. Uma solução de ácido oxálico (1 Molar) foi preparada e autoclavada, após foi transferido 10 ml de solução de ácido oxálico para tubos falcon de 15 ml e posteriormente foi adicionado 15 mg de crisotila. Triplicatas de amostras foram retiradas em 3, 6, 12, 20 e 30 dias. O magnésio solubilizado/lixiviado da estrutura da crisotila foi quantificado por Espectrometria de Absorção Atômica de Chama (EAA) e o material residual final (30 dias) foi submetido a uma análise de Difração de Raios-X (DRX).

### 2.3. Determinação do magnésio

O Magnésio solubilizado/lixiado da estrutura da crisotila para o meio (solução de ácido oxálico) foi quantificado utilizando Espectrometria de Absorção Atômica de Chama (EAA de Chama) em um equipamento PerkinElmer modelo PinAAcle 900T com chama composta de ar sintético (10 L/min) e acetileno (2,5 L/min) e comprimento de onda em 285,21 nm.

### 2.4. Caracterização

A crisotila foi caracterizada por Difração de Raios X (DRX) antes e após o tratamento com água e ácido oxálico utilizando um equipamento LabX XRD (Shimadzu, Japão). O equipamento foi operado em modo contínuo com velocidade de escaneamento de  $1^\circ \text{ min}^{-1}$ , de  $4^\circ$  a  $40^\circ$ . com Cu-K $\alpha$  radiação ( $\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$ ), voltagem de 30 kV.

## 3. Resultados e Discussão

A degradação das fibras de crisotila em uma solução de ácido oxálico foi avaliada em um período de até 30 dias, onde foi monitorado a solubilização/lixiviação do magnésio contido na estrutura química da crisotila e o material final resultante do tratamento foi submetido à análise de difração de raios X para avaliar a degradação da estrutura de crisotila. Como controle também foi realizado um ensaio experimental apenas com água. A Figura 1 mostra a cinética de solubilização/lixiviação do magnésio contido na estrutura química da crisotila em uma solução de ácido oxálico e água (controle). O experimento mostrou que em apenas 3 dias de tratamento 80% do teor total de magnésio foi solubilizado/lixiado, após este período a concentração de magnésio em solução se manteve constante até o final do tratamento. Observa-se que a concentração de magnésio em solução não atingiu valores correspondente ao total de magnésio presente na estrutura da crisotila, permanecendo em 80% de solubilização/lixiviação. Entretanto, acredita-se que a solubilização/lixiviação foi de 100%, e alguns íons de magnésio em solução foram adsorvidos no material residual formado ou complexado com o ácido oxálico na forma de oxalato de magnésio.

Para o tratamento com água (controle), a solubilização do magnésio não ultrapassou 1%, mostrando que a crisotila é estável em água. Isto comprova o efeito do ácido oxálico na solubilização do magnésio e consequente destruição da estrutura das fibras de crisotila. Ressalta-se que o material líquido resultante do tratamento da crisotila é rico em magnésio e pode ser utilizado para a fertirrigação, uma vez que o magnésio é um macro nutriente importante para a nutrição de plantas (SPASIANO et al., 2015).

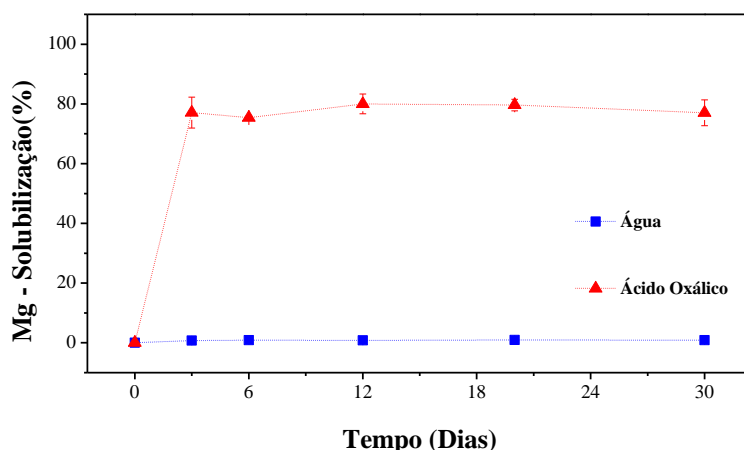


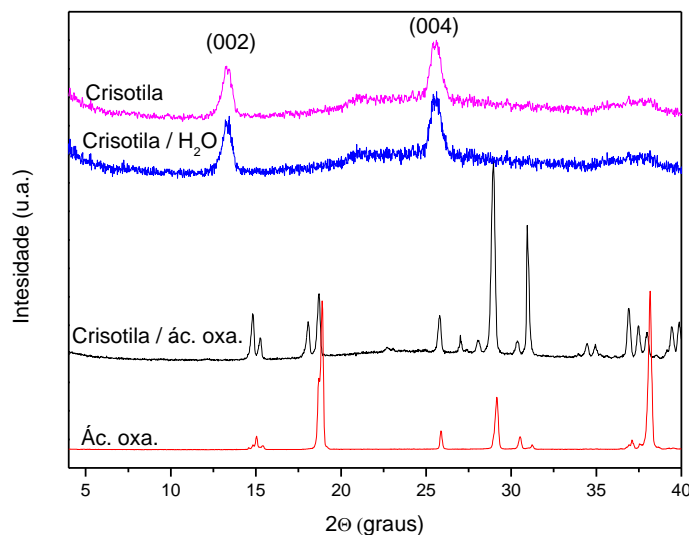
Figura 1. Cinética de solubilização do magnésio presente na estrutura da crisotila em solução de ácido oxálico.

A Figura 2 mostra o perfil de difração de raios X para a crisotila natural, crisotila tratada com ácido oxálico e a crisotila tratada apenas com água, após 30 dias de tratamento. Observa-se que o tratamento da crisotila com água não alterou o padrão de difração da crisotila, sendo compatível



com o da crisotila não tratada. Entretanto, quando tratado com ácido oxálico o perfil de difração de raios X da crisotila é alterado, os picos característicos da crisotila em (002) e (004) não são mais observados, o que evidencia a destruição da estrutura da crisotila, e portanto, a eliminação do caráter tóxico do material. Além disso, no tratamento ácido observa-se o surgimento de novos picos de difração, estes são referentes ao ácido oxálico residual precipitado juntamente com o resíduo sólido do tratamento durante a etapa de secagem. Dessa forma, comprovou-se o efeito do ácido oxálico no tratamento das fibras de crisotila.

A)



B)

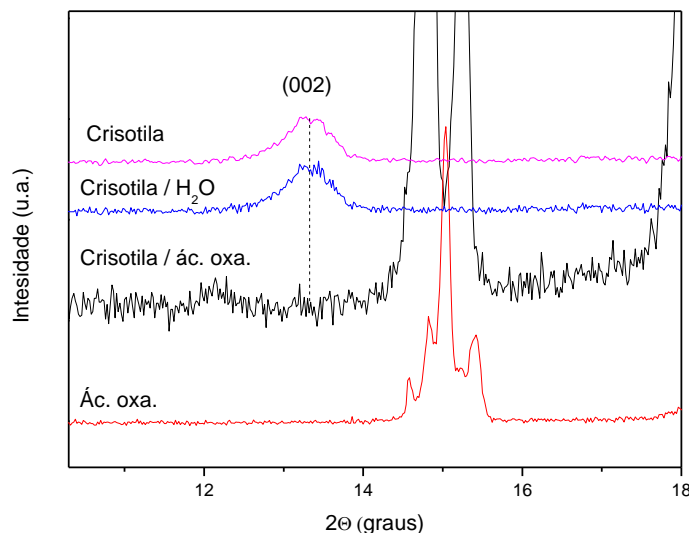


Figura 2. Padrão de difração de raios X para a crisotila natural e para os materiais residuais do tratamento da crisotila com ácido oxálico e água. A) região e 4-40 2θ(°) B) região e 4-18 2θ(°).

#### 4. Conclusões

Os resultados mostraram que o tratamento das fibras de crisotila com ácido oxálico foi eficiente para promover o tratamento da crisotila. Observou-se a completa destruição da estrutura química das fibras de crisotila e a solubilização/lixiviação do teor de magnésio total de crisotila em torno de 6 dias de tratamento. Portanto, o tratamento da crisotila com ácido oxálico pode ser uma alternativa de menor impacto ambiental, menor gasto energético e custo, com a vantagem de o material resultante residual poder ser utilizado na nutrição de plantas para fertirrigação.

## Agradecimentos

Agradecemos a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior). Os autores também agradecem a Embrapa Instrumentação, laboratório de Agroenergia e ao laboratório de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LNNA) por darem suporte ao desenvolvimento desta pesquisa.

## Referências

- Anastasiadou, K.; Axiotis, D.; Gidarakos, E. Hydrothermal conversion of chrysotile asbestos using near supercritical conditions. *J. Hazard Mater.*, v. 179, 926-932, 2010.
- Bales, R. C.; Morgan, J. J. Surface charge and adsorption properties of chrysotile asbestos in natural waters. *Environ. Sci. Technol.*, v. 19, 1213-1219, 1985.
- Belardi, G.; Piga, L. Influence of calcium carbonate on the decomposition of asbestos contained in end-of-life products. *Thermochim. Acta*, v. 573, 220-228, 2013.
- Bernstein, D. M.; Rogers, R. A.; Sepulveda, R.; Kunzendorf, P.; Bellmann, B.; Ernst, H.; Creutzenberg, O.; Phillips, J. I. Evaluation of the fate and pathological response in the lung and pleura of brake dust alone and in combination with added chrysotile compared to crocidolite asbestos following short-term inhalation exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v. 283, 20-34, 2015.
- Donaldson, K.; Tran, C. L. An introduction to the short-term toxicology of respirable industrial fibres. *Mutat. Res.*, v. 553, 5-9, 2004.
- Farley, J.; Voinov, A. Economics, socio-ecological resilience and ecosystem services. *J. Environ. Manag.*, v. 183, 389-398, 2016.
- Gualtieri, A. F.; Mangano, D.; Gualtieri, M. L.; Ricchi, A.; Foresti, E.; Lesci, G.; Roveri, N.; Mariotti, M.; Pecchini, G. Ambient monitoring of asbestos in selected Italian living areas. *J. Environ. Manag.*, v. 90, 3540-3552, 2009.
- Korytkova, E. N.; Maslov, A. V.; Pivovarova, L. N.; Drozdova, I. A.; Gusarov, V. V. Formation of  $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$  nanotubes under hydrothermal conditions. *Glass Phys. Chem.*, v. 30, 51-55, 2004.
- Kusiorowski, R.; Zaremba, T.; Piotrowski, J.; Gerle, A. Thermal decomposition of asbestos-containing materials. *J. Therm. Anal. Calorim.*, v. 113, 179-188, 2013.
- Lafaya, R.; Montes-Hernandez, G.; Janots, E.; Chiriac, R.; Findling, N.; Toche, F. Mineral replacement rate of olivine by chrysotile and brucite under high alkaline conditions. *J. Cryst. Growth*, v. 347, 62-72, 2012.
- Nam, S. N.; Jeong, S.; Lim, H. Thermochemical destruction of asbestos-containing roofing slate and the feasibility of using recycled waste sulfuric acid. *J. Hazard Mater.*, v. 265, 151-157, 2014.
- Senbayram, M.; Gransee, A.; Wahle, V.; Thiel, H. Role of magnesium fertilisers in agriculture: plant-soil continuum. *Crop & Pasture Science*, v. 66, 1219-1229, 2015.
- Spasiano, D.; Pirozzi, F. Treatments of asbestos containing wastes. *J. Environ. Manag.* v. 204, 82-91, 2017.

**FOLHAS DE CELULOSE DE CURAUÁ RECOBERTAS COM MICRO E NANOCERA DE CARNAÚBA**

Adriana de Campos<sup>1,\*</sup>, Pedro C. Claro<sup>1,2</sup>, Bruno R. Luchesi,<sup>1,2</sup> Marcela Miranda<sup>1</sup>, Fernanda V.D. Souza<sup>3</sup>, Marcos David Ferreira<sup>1</sup>, José M. Marconcini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratório Nacional de Naotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, Centro, São Carlos - SP, Brazil, 13560-970*

<sup>2</sup> *Federal University of São Carlos (UFSCar), Rod. Washington Luiz, km 235 - SP-310, São Carlos - SP - Brazil, 13565-905*

<sup>3</sup> *Embrapa Cassava and Tropical Fruits, Rua Embrapa s/nº, Caixa Postal 007, CEP: 44380-000, Cruz das Almas, BA*

\* *Autor correspondente, e-mail: dridecampos@yahoo.com.br*

**Resumo:** As folhas de celulose utilizadas nas aplicações de embalagem dependem das propriedades hidrofílicas das fibras de celulose. No entanto, o desenvolvimento de celulose hidrofóbica a partir de novos materiais sustentáveis obtidos de fontes renováveis ainda é pouco relatado na literatura. Assim, foi estudado um método para obter folhas hidrofóbicas de celulose curauá. As folhas foram revestidas por imersão a fim de alcançar o recobrimento via layer-by-layer, com micro e nanoemulsões de cera de carnaúba. Dessa forma, diferentes tamanhos de partículas de cera de carnaúba penetraram nos poros de celulose entre fibras emaranhadas, levando a diferentes propriedades.

A emulsão nano carnaúba apresentou o melhor desempenho, uma vez que as chapas apresentaram menor permeabilidade à umidade, aumento do ângulo de contato e maior adesão celulose-cera que as demais amostras. Além disso, o processo geral é mais barato, tornando-o viável em aplicações industriais.

**Palavras-chave:** folhas de celulose de curauá, nanocera de carnaúba, microcera de carnaúba, recobrimento, hidrofobicidade, amido catiônico

**CURAUÁ CELLULOSE SHEETS DIP-COATED WITH MICRO AND NANO CARNAUBA WAXES**

**Abstract:** The cellulose sheets used in packaging applications depend on the hydrophilic properties of the cellulose fibers. However, the development of hydrophobic cellulose from new sustainable materials obtained from renewable sources is still poorly reported in the literature. Thus, a green method to obtain hydrophobic curauá cellulose sheets was studied. The sheets were dip coated multiple times to achieve layer-by-layer deposition, in carnauba wax micro and nanoemulsions. In this way, different sizes of carnauba wax particles penetrated the small cellulose pores between entangled fibers, leading to different properties.

The nano carnauba emulsion presented the best performance since the sheets showed lower moisture permeability, slightly higher contact angle and stronger cellulose-wax adhesion than the other samples. Besides that, the overall process is cheaper, making it more useful in industrial applications.

**Keywords:** curauá cellulose fibers, nano carnauba wax, micro carnauba wax, dip coating, hydrophobicity, cationic starch.

**1. Introdução**

Os produtos de papel são obtidos de fontes lignocelulósicas, como pinheiros e eucaliptos (Lima et al., 2008; Bufalino et al., 2015). As fibras de curauá exibem alta resistência à tração e

módulo elástico (1,4 GPa e 54 GPa, respectivamente) e apresentam grande potencial de polpação devido à baixa concentração de lignina (11% em peso) (Corrêa et al., 2010; Cherian et al., 2011).

O processo de fabricação de papel é geralmente dividido em duas etapas: separação da celulose da matriz de biomassa por tratamentos alcalinos, e a própria formação da folha. É comum adicionar alguns produtos químicos durante esses processos para melhorar as propriedades do produto, como resistência mecânica, cor, absorção de umidade e hidrofobicidade (Shen et al., 2014).

Papel de fontes de celulose é usualmente hidrofílico devido aos grupos polares das fibras de celulose que são usadas para obter as folhas. A celulose é um homo-polissacarídeo linear de unidades anidro-d-glicose ligadas a beta-1,4. A unidade básica de repetição - celobiose - possui três grupos hidroxila, o que confere às moléculas de celulose seu caráter hidrofílico (Lavoine et al., 2012; Abdul Khalil et al., 2013; Brinchi et al., 2013). Pesquisas extensas têm sido dedicadas para aumentar a hidrofobicidade de materiais celulósicos e melhorar suas propriedades de barreira em condições úmidas (Forsman et al., 2017). Um método eficiente para introduzir hidrofobicidade às fibras de celulose é o revestimento, uma vez que este processo introduz um importante mecanismo de hidrofobicidade: rugosidade superficial (Ma e Hill, 2006; Bhushan e Jung, 2008). Este mecanismo aumenta a hidrofobicidade da celulose, dificultando a difusão de gotículas (Yan et al., 2011). A rugosidade foi comumente alterada pela aplicação de nanopartículas, como sílica, nanotubos de carbono e nanobastões de ZnO, na superfície das fibras de celulose (Forsman et al., 2017). Outro método eficiente para tornar as folhas de celulose hidrofóbicas é o grafting de polímero diretamente na superfície. Polietilenoglicol, 1,1,2,2-tetrahidroperfluorodecilacrilato, entre outros, foram enxertados em celulose para induzir hidrofobicidade (Forsman et al., 2017). Superfícies de fibra de celulose e partículas de cera de carnaúba são carregadas negativamente, então componentes com cargas opostas são necessários para o revestimento bem sucedido (Forsman et al., 2017). Portanto, escolhemos o amido catiônico como componente carregado positivamente introduzido nas folhas de celulose para melhorar a interação das fibras.

Neste artigo, descreve-se um método para obter folhas de celulose recobertas com material hidrofóbico, utilizando materiais ecologicamente corretos, como fibras de curauá e cera de carnaúba. O principal objetivo dos experimentos foi obter uma folha de celulose revestida com cera de carnaúba com propriedades melhoradas de barreira à água. Portanto, dois tipos de emulsões de cera de carnaúba foram usados como revestimento e propriedades mecânicas de tração, morfologia, permeabilidade ao vapor de água e análise de colorimetria das folhas revestidas foram analisadas.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Materiais

As fibras foliares de curauá foram fornecidas pela Embrapa Amazônia Ocidental. Hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio foram usados para tratamento alcalino das fibras. Amido catiônico (0,036% de grau de substituição) foi fornecido por Ingredion. Carnaúba tipo I foi fornecida pela empresa Pontes (Parnaíba, PI, Brasil) e ácido oleico de palma (P.A.), hidróxido de amônio e dimetilpolisiloxano foram adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co.

### 2.2. Métodos

#### 2.2.1. Preparação de fibras de curauá tratadas com solução alcalina

As fibras de curauá foram trituradas em moinho Wiley (diâmetro de 3 mm) e secas em estufa com circulação de ar durante 24 h a 50 °C e tratadas com solução de NaOH a 5% (m/v) a 70 °C, sob agitação constante, durante 60 min. A solução foi resfriada à 25 °C, filtrada e neutralizada com água deionizada. Após a neutralização, as fibras foram secas em estufa com circulação de ar a 50 °C até massa constante.

#### 2.2.2. Preparação de folhas de celulose curauá

As folhas de celulose de curauá foram preparadas adicionando 0,3% (m/v) de solução de

gel de amido catiônico disperso em água e fibras de curauá branqueadas (1% m/v) foram adicionadas à mistura e dispersas por ultrassom durante 3 min a 450 W. Em seguida, filtrou-se à vácuo até que as fibras estivessem ligeiramente úmidas. Foram utilizados papéis de filtro qualitativos acima e abaixo das fibras para obter fibras assimétricas e compactas durante o processamento de filtração a vácuo. Em seguida, as fibras úmidas foram completamente secas em forno com circulação de ar (80 °C) durante 40 min, para obter folhas de celulose. Estas amostras foram revestidas com micro e nano emulsões de cera de carnaúba.

### *2.2.3. Preparação de micro e nano emulsão de cera de carnaúba*

A fase oleosa foi composta por cera de carnaúba tipo 1 (8-18 % m/v) e ácido palmítico oleico (2,6-6 % m/v). A fase aquosa foi composta por amido (1-3% m/v), dimetilpolisiloxano (0,02 a 0,1% em volume) e água deionizada (71-89 % m/v).

#### 2.2.3.1. Síntese da microemulsão de cera de carnaúba

A microemulsão de cera de carnaúba foi preparada em um reator aberto, fundindo a fase oleosa a 105 °C e adicionando a fase aquosa (20-30% de água deionizada quente), formando uma emulsão A/O, com agitação mecânica constante (800 rpm) por 10 minutos. Posteriormente, a água restante aquecida a 95 °C foi lentamente adicionada ao sistema, mudando-a para uma emulsão O/A. Em seguida, o sistema foi submetido a agitação mecânica a 800 rpm por 20 minutos e resfriado a 50 °C por uma serpentina interna de resfriamento do reator. Este método, com amônio, é descrito em detalhes por Hagenmaier e Baker (1997) e foi adaptado para este trabalho.

#### 2.2.3.2. Nanoemulsão de cera de carnaúba

A fase oleosa e 20-30% de fase aquosa foram aquecidas a 120 °C num reator fechado, atingindo 3 kg/cm<sup>2</sup> sob agitação mecânica a 75 rpm durante 30 min, formando uma emulsão A/O. A água remanescente, aquecida a 95 °C, foi adicionada ao sistema por uma bomba dosadora. A agitação mecânica foi aumentada para 100 rpm e mantida durante 20 minutos. Após esse período, a nanoemulsão foi resfriada a 90 °C por 10- 20 minutos, resultando em uma emulsão O/A, com o óleo em nano partículas dispersas na fase aquosa. Em seguida, a nanoemulsão foi submetida a homogeneização a alta pressão (400 bar) a 90 °C e o produto foi devolvido ao reator. Após a passagem de toda a emulsão, aplicou-se um choque térmico até o completo resfriamento a 20-25 °C. Este método, com amônia, é descrito em detalhes por Hagenmaier e Baker (1974), adaptado para este trabalho.

### *2.2.4. Revestimento das folhas de celulose de curauá com micro e nanocera*

Folhas de celulose de curauá foram cortadas em amostras de 30 mm x 6 mm e revestidas 2 vezes por nano e microemulsões de cera de carnaúba, utilizando uma máquina de imersão automática (Haubenteuer MG-1100), onde as folhas foram mergulhadas durante um segundo na emulsão e depois seca em estufa com circulação de ar durante 60 min a 50 °C.

### *2.2.5. Permeabilidade ao vapor de água*

A permeabilidade ao vapor de água (WVP) foi determinada com base no método descrito em ASTM E 96-95 (ASTM 2000). As medições foram realizadas em amostras de folhas de celulose revestidas e não revestidas, cortadas em formato circular com 3 cm de diâmetro e fixadas em células de vidro após a adição de 6 ml de água deionizada. As células com as amostras foram colocadas em estufa a 40 °C e umidade relativa de 20%. A massa de cada conjunto foi medido com balanço semi-analítica durante 72 horas. A estimativa da permeabilidade ao vapor de água (WVP) foi calculada considerando a equação 1:

$$WVP = (w / t) \times L \times A \times \Delta P \quad (1)$$

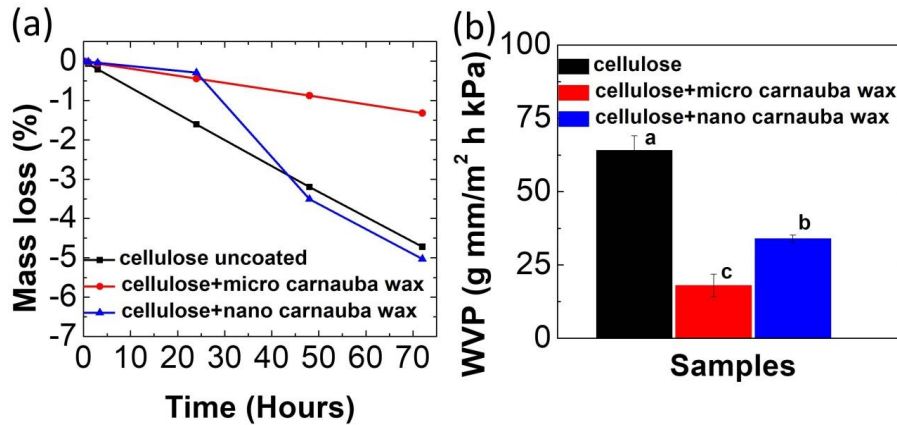
Onde "w/t" indica a perda de peso por unidade de tempo, "L" é a espessura da folha, "t" a unidade

de tempo, "A" a área de permeação e " $\Delta P$ " o gradiente de pressão entre a face superior e inferior da folha na célula de vidro.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Permeabilidade ao Vapor de Água

A permeabilidade ao vapor de água (WVP) das folhas de celulose não recobertas e recobertas com as nano e microemulsões são apresentadas na Figura 1.



Notes: Significant differences at  $p < 0.05$  are followed by different letters.  
\* a-c correspond to statistically different groups. The measurements were made by the Duncan ANOVA method using R.<sup>3</sup> version 3.3.3.

Figura 1. Perda de massa (%) em função do tempo (a) e permeabilidade ao vapor de água (WVP) (b) de folhas de celulose não recobertas e recobertas com nano e microemulsão de cera de carnaúba.

A Fig. 1a descreve a perda de massa (%) do líquido dentro das células revestidas pelas amostras. Estes resultados mostram que as folhas de celulose revestidas com a microemulsão sofreram menor perda de massa do que as amostras não revestidas e as amostras revestidas com nanoemulsão, isto é, menos vapor de água que passou através das folhas.

Folhas de celulose revestidas com a nanoemulsão apresentaram menor perda de massa durante 24 horas. Após esse período, o material perdeu sua capacidade de barreira devido ao pequeno tamanho de partícula e a celulose começou a absorver água. Em contraste, a microemulsão foi capaz de preencher os vazios nas fibras de curauá, reduzindo a permeabilidade ao vapor de água.

A Figura 1b mostrou a permeabilidade ao vapor de água (WVP) das amostras. As folhas não revestidas apresentaram alta WVP ( $64 \pm 5$  g mm / m<sup>2</sup> h kPa). Folhas revestidas com a nanoemulsão apresentaram WVP superior após 24 horas ( $34 \pm 1$  g mm / m<sup>2</sup> h kPa) em comparação com as folhas revestidas com a microemulsão ( $18 \pm 4$  g mm / m<sup>2</sup> h kPa). O revestimento em microemulsão atuou como uma barreira impenetrável ao vapor de água, uma vez que os valores de WVP foram os mais baixos e os testes estatísticos mostraram diferenças entre as amostras, de acordo com o método de comparações múltiplas de Duncan. Estes resultados mostraram que micro partículas de cera de carnaúba foram responsáveis pelo preenchimento dos poros de celulose e formaram uma barreira ao vapor de água.

### 4. Conclusões

Os resultados mostraram que as folhas de celulose de curauá revestidas com microemulsão de cera de carnaúba apresentaram aumento na resistência ao vapor de água comparadas às folhas de curauá revestidas com nanoemulsão e folhas não revestidas. Estes resultados mostram o grande potencial da aplicação de emulsões de cera de carnaúba para melhorar as propriedades físicas das folhas de celulose, possibilitando a aplicação dessas folhas em embalagens de alimentos de baixo custo.

### Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro dos órgãos de fomento CNPq, Fapesp, Capes e à Embrapa, que tornou possível a realização deste trabalho.

Os autores agradecem também as sugestões dos revisores, visto que o conteúdo deste trabalho foi adaptado do artigo científico publicado pelos autores na revista *Cellulose*, como “Curaua cellulose sheets dip coated with micro and nano carnauba wax emulsions”, doi 10.1007/s10570-019-02637-0.

### Referencias

- Abdul Khalil H, Davoudpour Y, Sri Aprilia N a, et al (2013) Nanocellulose Based Polymer Nanocomposite: Isolation, Characterization and Applications. 1–31
- ASTM (2000) ASTM E96-95 Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials
- Bhushan B, Jung YC (2008) Wetting, adhesion and friction of superhydrophobic and hydrophilic leaves and fabricated micro/nanopatterned surfaces. *J Phys Condens Matter* 20:225010. doi: 10.1088/0953-8984/20/22/225010
- Brinchi L, Cotana F, Fortunati E, Kenny JM (2013) Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: Technology and applications. *Carbohydr. Polym.* 94:154–169
- Bufalino L, de Sena Neto AR, Tonoli GHD, de Souza Fonseca A, Costa TG, Marconcini JM, Mendes LM (2015) How the chemical nature of Brazilian hardwoods affects nanofibrillation of cellulose fibers and film optical quality. *Cellulose* 22:3657-3672. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0771-3>
- Cherian BM, Leão AL, De Souza SF, et al (2011) Cellulose nanocomposites with nanofibres isolated from pineapple leaf fibers for medical applications. *Carbohydr Polym* 86:1790–1798. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.07.009
- Hagenmaier R, Baker R (1997) Edible coatings from morpholine-free wax microemulsions. *J Agric Food Chem* 45:4–7
- Hagenmaier RD, Baker RA (1994) Wax Microemulsions and Emulsions as Citrus Coatings. *J Agric Food Chem* 42:899–902. doi: 10.1021/jf00040a012
- Kalia S, Boufi S, Celli A, Kango S (2014) Nanofibrillated cellulose: Surface modification and potential applications. *Colloid Polym Sci* 292:5–31. doi: 10.1007/s00396-013-3112-9
- Lavoine N, Desloges I, Dufresne A, Bras J (2012) Microfibrillated cellulose - Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydr. Polym.* 90:735–764
- Lima CF, Barbosa LCA, Marcelo CR, Silvério FO, Colodette JL (2008) Comparison between analytical pyrolysis and nitrobenzene oxidation for determination of syringyl/guaiacyl ratio in *Eucalyptus* spp. lignin. *BioResources* 3:701-712.
- Samyn P (2013) Wetting and hydrophobic modification of cellulose surfaces for paper applications. *J Mater Sci* 48:6455–6498. doi: 10.1007/s10853-013-7519-y
- Shen J, Fatehi P, Ni Y (2014) Biopolymers for surface engineering of paper-based products. *Cellulose*

**MICRO/NANOFIBRAS DE BORRACHA NATURAL PRODUZIDAS POR  
ELETROFIAÇÃO CONTENDO ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO**Paulo. A.M.Chagas<sup>1,2,\*</sup>, Murilo. H. M. Facure<sup>1,3</sup>, Daniel. S.Correa<sup>1,2,3</sup><sup>1</sup> EMBRAPA Instrumentação, Rua XV de novembro, 1452, 13560970, São Carlos, SP<sup>2</sup> PPG-Biotecnologia, Rodovia Washington Luis, km 235, 13560000, São Carlos, SP<sup>3</sup> PPG-Química, Rodovia Washington Luis, km 235, 13560000, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: aschagasdop@gmail.com

**Resumo:** Eletrofiação é capaz de produzir micro/nanofibras poliméricas com características interessantes que podem ser empregadas em sensores, liberação controlada de fármacos e engenharia de tecidos. Inúmeros são os polímeros empregados para tais aplicações, e a borracha natural obtida a partir do látex extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* é um polímero de grande interesse para a preparação de biomateriais devido às suas propriedades mecânicas, estímulo à angiogênese e potencial aplicabilidade como sistema de liberação de fármacos. Além de suas excelentes propriedades, o látex permite a possibilidade de reações *in situ*, como a redução do óxido de grafeno. O óxido de grafeno reduzido (rGO) possui inúmeras propriedades que podem ser adicionadas à borracha natural como a melhoria nas propriedades elétricas, térmicas e mecânicas. O GO foi reduzido *in situ* no látex com o uso de ácido ascórbico, o que adiciona um caráter de "síntese verde" à reação. Após a secagem, o material obtido foi solubilizado em clorofórmio, ácido fórmico e DMF para produção de micro/nanofibras por eletrofiação, as quais tem potencial de aplicação em sensores e dispositivos.

**Palavras-chave:** borracha natural, óxido de grafeno, eletrofiação, nanofibra.

**NATURAL RUBBER MICRO/NANOFIBERS PRODUCED BY ELETROSPINNING  
CONTAINING REDUCED GRAPHENE OXIDE**

**Abstract:** Electrospinning is capable of producing micro/nanofibers with interesting features that can be applied in sensors, drug controlled release and tissue engineering. Several polymers can be used for such applications, but natural rubber obtained from latex extracted from the rubber tree *Hevea brasiliensis* is of large interest for the preparation of biomaterials due to its mechanical properties, stimulus to angiogenesis, and the potential applicability as a vehicle for drug release. In addition to its excellent properties, latex allows for the possibility of *in-situ* reactions such as the reduction of graphene oxide. Reduced graphene oxide (rGO) has numerous properties that can be added to natural rubber as the improvement in electrical, thermal and mechanical properties. Graphene oxide was reduced *in-situ* in the latex with the use of ascorbic acid, which adds a character of "green synthesis" to the reaction. After drying, the obtained material was solubilized in chloroform, formic acid and DMF with the polymer solution for nano/microfiber production through electrospinning, which have potential to be applied in sensors and devices.

**Keywords:** natural rubber, oxide graphene, electrospinning, nanofiber.

**1. Introdução**

O desenvolvimento de nanofibras de polímeros naturais tem ganhado cada vez mais destaque e suas aplicações variam desde a fabricação de *scaffolds* para engenharia de tecidos, dispositivos para liberação controlada e utilização em sensores [PASCHOALIN, *et al.* 2017; SCHNEIDER, *et al.* 2018; ANDRE, *et al.* 2019]. Dentre as técnicas de produção de nanofibras, a eletrofiação tem demonstrado ser eficiente para produção de nanofibras com características interessantes como alta porosidade e grande área superficial.



A borracha natural (BN) extraída da seringueira é um polímero natural e abundante, de custo reduzido e que tem sido empregado na produção de biomateriais como membranas para liberação controlada [MORISE, *et. al.* 2019]. Além dessas vantagens da BN para utilização como um biomaterial, a BN apresenta também propriedades mecânicas interessantes como flexibilidade, elasticidade [ZANCANELA, *et. al.* 2019] e possibilidade de incorporar compostos à borracha natural para melhorar as propriedades do biomaterial [NASCIMENTO, *et. al.* 2018]. Óxido de grafeno é uma estrutura composta de carbonos organizados formando uma estrutura 2D contendo funções oxigenadas em sua estrutura e tem atuado como um material de reforço e na funcionalização de polímeros, melhorando as propriedades mecânicas e térmicas do nanocompósito. Em adição às propriedades mecânicas, reações *in-situ*, como a redução do óxido de grafeno, tem sido relatadas com o uso de látex [YAN, *et. al.* 2014; ZHAN, *et. al.* 2011; WANG, *et. al.* 2019]. Recentemente, estudos tem relatado o uso de grafeno empregando látex para obtenção de uma matriz de borracha reforçada com propriedades elétricas (LIU, *et. al.* 2019). Óxido de grafeno reduzido (rGO) também tem sido relatado com propriedades antibacterianas [VALENTINI, *et. al.* 2019; YOUSEFI, *et. al.* 2019]. COSTA *et. al.* em 2013 apresentaram blendas eletrofiadas de borracha natural com PCL na qual resultou em uma manta com alta elasticidade e resistência mecânica.

Neste trabalho, membranas de BN e BN contendo rGO foram produzidas por *casting* empregando a reação *in situ* de redução do GO. O material obtido foi utilizado para produção de micro/nanofibras de BN/rGO, e as membranas de BN/rGO foram avaliadas através de caracterizações mecânicas, térmicas e elétricas, enquanto que as nano/microfibras produzidas foram avaliadas morfológicamente.

## 2. Materiais e Métodos

Látex foi coletado a partir do clone da seringueira *Hevea brasiliensis*, cedido pela Dra. Maria Alice Martins da EMBRAPA Instrumentação. Os solventes empregados são clorofórmio (*Synth-BR*), ácido fórmico (99%, Aldrich) e ácido ascórbico (*Synth-BR*).

**Método:** O óxido de grafeno (1%  $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ ) foi reduzido *in-situ* no látex com o uso de ácido ascórbico sob temperatura de  $60^\circ\text{C}$  e agitação magnética por 4 horas. Após a redução, o látex é seco em estufa a  $60^\circ\text{C}$  por 10 horas para a produção de membranas por *casting*, apresentado na Figura 1.

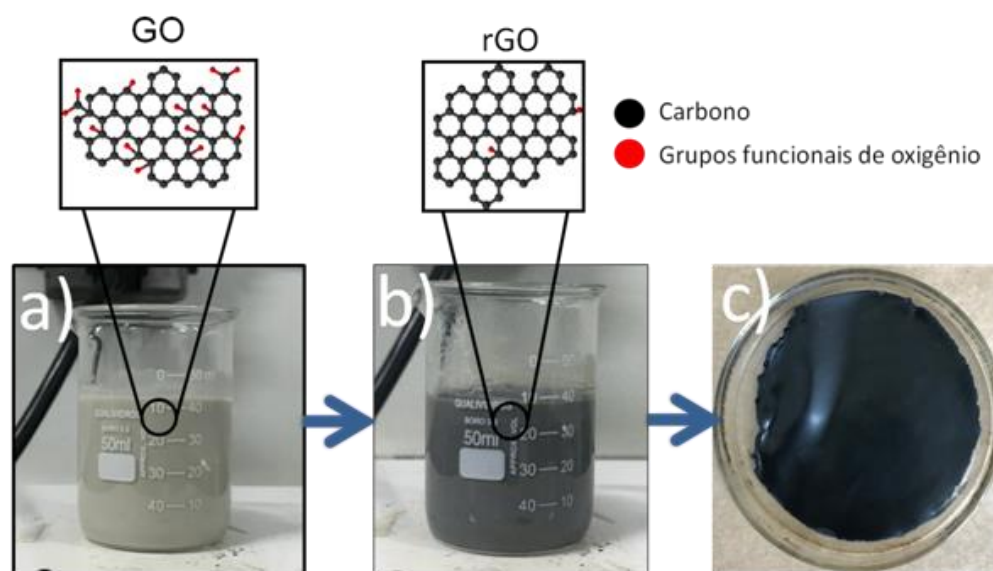


Figura 1. a) Solução de látex com GO b) Após 4 horas à  $60^\circ\text{C}$  e c) membrana de BN/rGO 1%

Após seco, o material obtido é solubilizado em clorofórmio, DMF e ácido fórmico com uma concentração polimérica de 3% (m/v). Após 6 horas em agitação magnética, a solução é eletrofiada empregando o equipamento de eletrofição, como mostra a Figura 2.

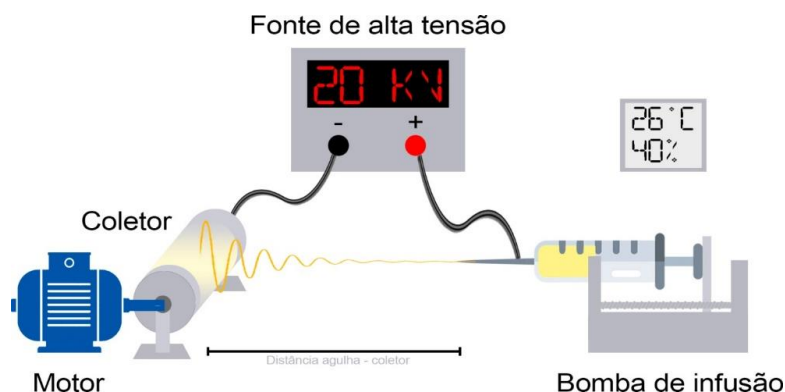


Figura 2. Equipamento de eletrofição.

Os parâmetros de eletrofição empregados foram 10 kV, 10 cm de distância entre agulha e coletor, 0,8 mL.h<sup>-1</sup>, 26°C, 25% umidade relativa e 400 rpm.

### 2.1. Caracterização da membrana – Propriedades mecânicas e elétricas

As propriedades mecânicas das membranas foram testadas utilizando o equipamento Analisador dinâmico-mecânico (DMA) (TA Instruments, model DMA Q800, USA). Medidas de espectroscopia de impedância foram realizadas utilizando um Analisador de impedância (Solartron 1260 A) com frequência entre 100Hz a 1MHz e potencial aplicado de 50mV.

### 2.2. Caracterização das micro/nanofibras – Morfologia

As morfologias das fibras obtidas foram investigadas utilizando a Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) (JEOL 6510). As amostras foram revestidas com ouro e em seguida observadas por MEV. O diâmetro foi obtido pelo software ImageJ a partir das medidas de 100 fibras randômicas.

## 3. Resultados

As propriedades elétricas e mecânicas foram obtidas a partir da membrana de BN e BN/rGO 1%. As medidas elétricas foram realizadas no equipamento Analisador de Impedância onde foram obtidas resistências de  $2,7 \times 10^6 \Omega$  para a BN e  $6,1 \times 10^4 \Omega$  para BN/rGO em 10.000 Hz.

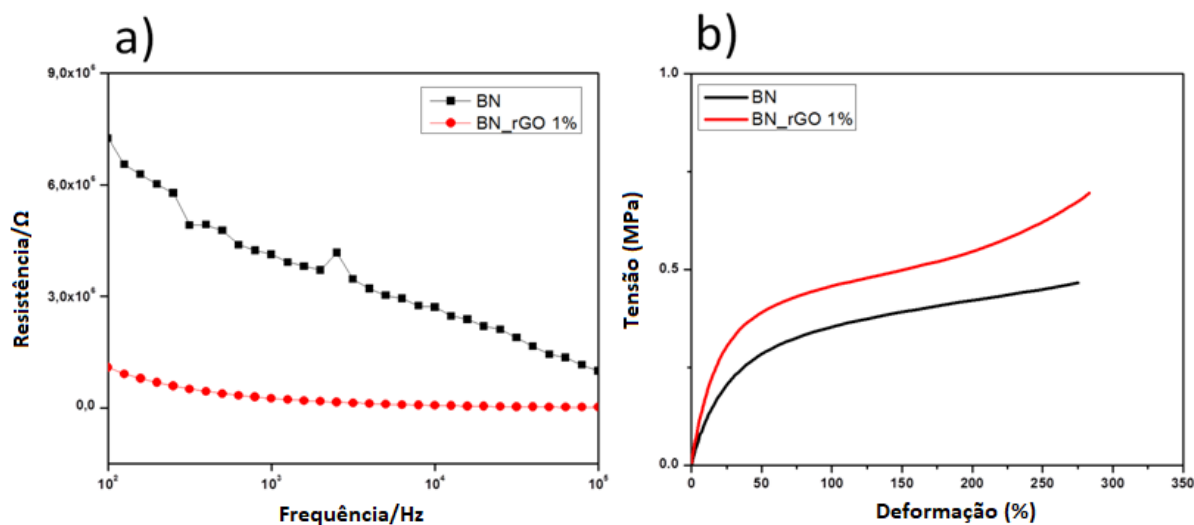


Figura 3. Medidas elétricas a) e propriedades mecânicas b) obtidas para as membranas BN e BN\_rGO1%;

A análise mecânica foi realizada no equipamento DMA e foram obtidos módulo de elasticidade de  $1,10 \text{ MPa} \pm 0,09$  para membrana de BN e de  $1,78 \text{ MPa} \pm 0,31$  para membrana de BN\_rGO1%. A análise morfológica das fibras eletrofiadas foi realizada por MEV onde foram obtidas fibras homogêneas, sem *beads* e um diâmetro médio de  $2,2 \mu\text{m}$ . Adicionalmente, a presença de rGO na superfície da nanofibra pode ser observada.

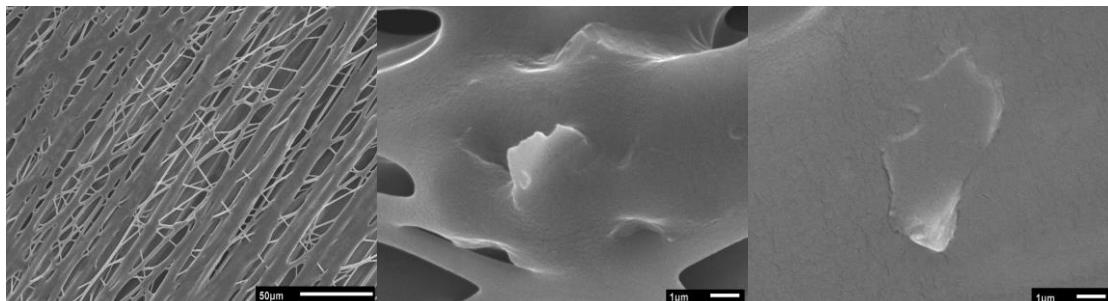


Figura 4. Microscopia eletrônica de Varredura obtida das micro/nanofibras de BN\_rGO1%.

#### 4. Conclusões

Os resultados preliminares indicam que com o uso da eletrofiação é possível produzir nano/microfibras de borracha natural contendo óxido de grafeno reduzido. Estas formulações, depois de otimizadas, poderão ser empregadas na fabricação de sensores e dispositivos, cujos experimentos serão feitos nos próximos meses.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem às agências de financiamento CAPES – Código de Financiamento 001, FAPESP, CNPQ, MCTI-SisNano, Embrapa Agronano.

#### Referências

- ANDRE, Rafaela S. et al. Enhanced and selective ammonia detection using In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/reduced graphene oxide hybrid nanofibers. **Applied Surface Science**, v. 473, p. 133-140, 2019.
- COSTA, Ligia Maria Manzine; MATTOSO, Luiz Henrique Capparelli; FERREIRA, Mariselma. Electrospinning of PCL/natural rubber blends. **Journal of materials science**, v. 48, n. 24, p. 8501-8508, 2013.
- LIU, Haijun; GAO, Hanyang; HU, Guoxin. Highly sensitive natural rubber/pristine graphene strain sensor prepared by a simple method. **COMPOSITES PART B-ENGINEERING**, v. 171, p. 138-145, 2019.
- MORISE, B. T. et al. Scopolamine loaded in natural rubber latex as a future transdermal patch for sialorrhea treatment. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 68, n. 13, p. 788-795, 2019.
- NASCIMENTO, Rodney Marcelo do et al. Wettability Study on Natural Rubber Surfaces for Applications as Biomembranes. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 4, n. 8, p. 2784-2793, 2018.
- PASCHOALIN, Rafaella T. et al. Solution blow spinning fibres: New immunologically inert substrates for the analysis of cell adhesion and motility. **Acta biomaterialia**, v. 51, p. 161-174, 2017.
- SCHNEIDER, Rodrigo et al. Biocompatible electrospun nanofibers containing cloxacillin: Antibacterial activity and effect of pH on the release profile. **Reactive and Functional Polymers**, v. 132, p. 26-35, 2018.
- VALENTINI, Federica et al. Functionalized Graphene Derivatives: Antibacterial Properties and Cytotoxicity. **Journal of Nanomaterials**, v. 2019, 2019.
- YAN, Ning et al. The role of reduced graphene oxide on chemical, mechanical and barrier

properties of natural rubber composites. **Composites science and technology**, v. 102, p. 74-81, 2014.

WANG, Jian et al. Simultaneous reduction and surface functionalization of graphene oxide and the application for rubber composites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 15, p. 47375, 2019.

YOUSEFI, Nariman et al. Environmental performance of graphene-based 3D macrostructures. **Nature nanotechnology**, p. 1, 2019.

ZANCANELA, Daniela Cervelle et al. Natural rubber latex membranes incorporated with three different types of propolis: Physical-chemistry and antimicrobial behaviours. **Materials Science and Engineering: C**, v. 97, p. 576-582, 2019.

ZHAN, Yanhu et al. Dispersion and exfoliation of graphene in rubber by an ultrasonically-assisted latex mixing and in situ reduction process. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 296, n. 7, p. 590-602, 2011.

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES HÍBRIDOS COMPOSTOS POR DIÓXIDO DE TITÂNIO E POLÍMERO CONDUTOR COM POTENCIAL APLICAÇÃO NA ANÁLISE DE VOLÁTEIS**Patrick P. Conti<sup>1,2,\*</sup>, Rafaela S. Andre<sup>2</sup>, Luiza A. Mercante<sup>2</sup> e Daniel S. Correa<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> PPGQ, Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e da Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, 13565-905, São Carlos, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil.

\* Autor correspondente, e-mail: ppatrickconti@gmail.com

**Resumo:** Sensores químicos podem ser uma eficiente estratégia para o monitoramento de voláteis provenientes de produtos do agronegócio, como por exemplo, voláteis relacionados ao amadurecimento de frutos, à deterioração de carnes e controle do crescimento de plantas. Materiais cerâmicos e poliméricos têm sido amplamente investigados para o desenvolvimento de sensores, visto suas interessantes propriedades elétricas e ópticas. Entretanto, com intuito de otimizar e aprimorar o desempenho desses dispositivos, materiais híbridos vêm sendo estudados devido ao efeito sinérgico entre as fases constituintes. Dessa forma, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de sensores baseados em nanocompósitos de TiO<sub>2</sub> (0D e 1D) e polímero condutor (PEDOT:PSS). As nanopartículas de TiO<sub>2</sub> foram obtidas através da rota de síntese sol-gel e apresentaram morfologia esférica, na fase cristalina anatase sem impurezas. As nanofibras de TiO<sub>2</sub> foram obtidas empregando-se a técnica de eletrospiação, as quais apresentaram homogeneidade na distribuição de tamanho das fibras. Preparou-se nanocompósitos com diferentes concentrações do polímero e depositou-se filmes dos mesmos em microeletrodos interdigitados, para a utilização em um sistema tipo nariz eletrônico. Medidas elétricas demonstram que os sensores apresentam potencialidade para a utilização no monitoramento de voláteis de interesse do agronegócio.

**Palavras-chave:** Sensores químicos, nariz eletrônico e óxido de titânio.

***VOLATILE ANALYSIS USING HYBRID SENSORS COMPOSED BY TITANIUM DIOXIDE AND CONDUCTING POLYMER***

**Abstract:** Chemical sensors can be an efficient strategy for monitoring volatiles arising from agribusiness products, such as volatiles arising from fruit ripening, meat deterioration and plant growth control. Ceramic and polymeric materials have been widely investigated for the development of sensors, given their interesting electrical and optical properties. However, in order to optimize and improve the performance of these devices, hybrid materials have been studied due to the synergistic effect between the constituent phases. Thus, the present work proposes the development of sensors based on TiO<sub>2</sub> (0D and 1D) nanocomposites and conducting polymer (PEDOT:PSS). The TiO<sub>2</sub> nanoparticles were obtained through the sol-gel synthesis route and presented spherical morphology in the anatase crystalline phase without impurities. TiO<sub>2</sub> nanofibers were obtained by using the electrospinning technique, which presented homogeneity in the fiber size distribution. Nanocomposites with different polymer concentrations were prepared and films were deposited onto interdigitated microelectrodes for use in an electronic nose system. Electrical measurements show that the sensors have great potential for monitoring volatiles related to the agriculture sector.

**Keywords:** Chemical sensors, electronic nose, and titanium oxide.

## 1. Introdução

Inovações tecnológicas têm modificado a forma de produzir alimento ao longo dos séculos. Toda a cadeia do agronegócio tem sido profundamente impactada com aspectos da ciência e tecnologia, como a produção de culturas modificadas geneticamente, a modernização do processamento e manejo de insumos agrícolas e utilização da internet das coisas para controlar e acompanhar diferentes variáveis nos processos de produção (GEORGAKOPOULOS; JAYARAMAN, 2016; WAGNER WEICK, 2001). Monitorar a emissão de gases durante a cadeia produtiva pode ser uma possibilidade para diminuir desperdícios e perdas, como por exemplo, de frutos e carnes. Por isso, faz-se necessário o desenvolvimento de dispositivos que possam realizar tal tarefa de forma mais eficiente, com menor custo agregado e que possibilitem a realização de análises *in situ*.

Para detecção de gases os sensores químicos nanoestruturados com mecanismo de transdução elétrico têm sido vastamente utilizados (BHARDWAJ et al., 2019; RHEAUME; PISANO, 2011; SINGH; MEYYAPPAN; NALWA, 2017), visto o seu baixo custo de produção, curto tempo de análise, estabilidade térmica e seletividade (HUANG et al., 2016; NEMADE; BARDE; WAGHULEY, 2015). Sensores baseados em plataformas híbridas que empregam materiais cerâmicos e polímeros condutores têm apresentado resultados promissores no monitoramento de compostos voláteis (ANDRE et al., 2015; PANG et al., 2016; SONKER; SABHAJEET; YADAV, 2016). Um exemplo de plataforma híbrida para detecção de amônia, gás comumente encontrado em granjas aviárias e que pode afetar o volume de produção de carne mesmo em baixas concentrações, foi reportado no trabalho de Andre e colaboradores (ANDRE et al., 2018). Os autores observaram uma melhora do desempenho do material híbrido devido ao efeito sinérgico da combinação dos materiais, possibilitando a detecção seletiva da amônia em temperatura ambiente e com baixo limite de detecção. Ter controle sobre o nível de  $\text{NH}_3$  em um espaço como aviário, pode evitar animais subdesenvolvidos e até mesmo perda por intoxicação. Dessa forma, monitorar analitos gasosos envolvidos na produção agrícola pode ser uma forma de reduzir perdas.

Nesse cenário, o presente trabalho visa o desenvolvimento e avaliação do desempenho de sensores baseados em nanoestruturas híbridas composta por óxido semicondutor, com dimensionalidade 0D e 1D, e polímero condutor para aplicação futura no monitoramento de gases agregados nas etapas de produção do agronegócio.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Síntese de nanopartículas de $\text{TiO}_2$ (0D)

O método sol-gel foi empregado para a sínteses das nanopartículas. Primeiro preparou-se uma solução com 0,7 ml de butóxido de titânio (IV) e 23 mL de álcool isopropílico. Após isso, preparou-se uma segunda solução com 0,025g de PEG 4000, 2 mL de álcool isopropílico e 0,5 mL de água. Misturou-se as duas soluções sob constante agitação. A solução resultante foi posta em um reator selado, e esse foi aquecido à 180 °C e mantido por 12h. Após o tempo reacional, o material foi purificado com etanol com intuito de remover subprodutos.

### 2.2 Produção de nanofibras de $\text{TiO}_2$ (1D)

Utilizou-se o processo de eletrofiação para a produção de nanofibras. Para isso, preparou-se duas soluções. A primeira solução consistia de 1,5 mL de butóxido de titânio (IV), em uma solução de etanol e ácido acético. Para a segunda utilizou-se 0,2 g de polivinilpirrolidona (PVP) em etanol. As duas soluções foram misturadas e mantidas sob agitação, cujo parâmetro de eletrofiação foi otimizado com tensão de 7 kV de tensão e 10 cm de distância até o coletor. Para a remoção posterior da fase polimérica e para promover a cristalização do óxido de titânio realizou-se tratamento térmico do material em 500 °C.

### 2.3 Produção e medidas elétricas dos sensores híbridos

Para a produção dos sensores o processo foi dividido em duas etapas. Primeiro pesou-se 1 mg de cada material inorgânico, dispersou-os em 200  $\mu$ L de álcool isopropílico e levou-os para banho ultrassônico por 30 min para nanopartículas e 3 min para nanofibras. A próxima etapa foi acrescentar diferentes concentrações de poli(3,4-etileno dioxitiofeno)-poliestireno sulfonado (PEDOT-PSS) (6% e 8% m/v) e realizou-se agitação das suspensões manualmente.

Após as soluções estarem prontas, empregou-se alíquotas de cada uma delas para depositar por drop-casting em eletrodos interdigitados de ouro (EIO), após isso os eletrodos foram deixados secar por 24h no dessecador. Os eletrodos empregados foram produzidos por fotolitografia convencional em substratos de vidros com 50 pares de dígitos com 10  $\mu$ m de largura e 10  $\mu$ m de espaçamento entre eles. Os mesmos foram produzidos no Laboratório de Microfabricação de LNNano do CNPEM (LMF/LNNano-CNPEM). Passadas as 24h os eletrodos foram alocados em uma câmara de medida, formando um sistema do tipo nariz eletrônico em que cada unidade sensorial foi interrogada individualmente. As análises foram realizadas empregando-se um analisador de impedância Solartron, modelo 1260, usando-se tensão AC de 50 mV, na faixa de frequência de 1 – 10<sup>6</sup> Hz, em umidade controlada.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Obtenção de nanopartículas de TiO<sub>2</sub>

Após o material ser lavado e seco por 24h em dessecador, as nanopartículas foram caracterizadas por difração de raios X e o padrão obtido demonstra que o óxido foi obtido na fase cristalina anatase (JCPDS 21-1272), conforme Figura 1 (a). Como os planos de difração são estreitos e bem definidos pode-se supor alta cristalinidade das nanopartículas. Nenhum pico de outras fases ou impurezas foram encontrados, indicando alta pureza do material. Na Figura 1 (b), encontra-se a microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) e percebe-se que partículas esféricas e em escala nanométrica foram obtidas. Dessa maneira, o material estava apto para ser empregado no desenvolvimento das plataformas sensoriais.

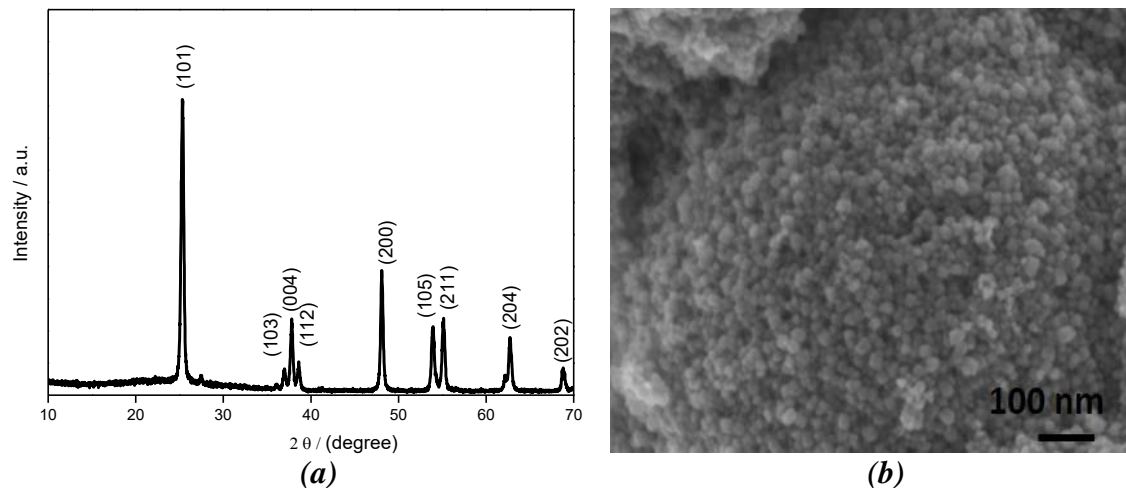


Figura 1. Caracterização das nanopartículas de TiO<sub>2</sub> (a) DRX e (b) MEV-FEG.

### 3.2 Obtenção de nanofibras de TiO<sub>2</sub>

Finalizado o tratamento térmico, realizou-se a difração de raios X no material e constatou-se que os picos de difração correspondiam à fase cristalina anatase (JCPDS 21-1272) do óxido. Nenhum pico referente a impureza ou fases indesejadas foram observados. Empregando-se a MEV-FEG e observou-se nanofibras homogêneas, orientadas aleatoriamente, com diâmetro em torno de 50 nm e alguns micrometros de comprimento.

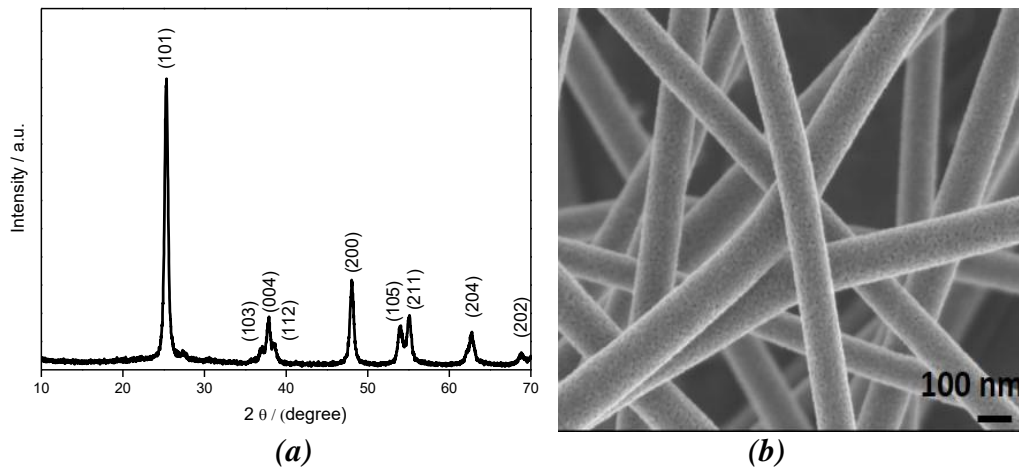


Figura 2. Caracterização das nanofibras de  $\text{TiO}_2$  (a) DRX e (b) MEV-FEG.

### 3.3 Produção e caracterização dos sensores

Após os filmes secarem, empregou-se a técnica de MEV-FEG para investigar como o nanocompósito de nanofibras e PEDOT-PSS foi formado, conforme Figura 3 (a). Percebe-se que a fase cerâmica encontra-se dispersa na fase polimérica. Essa característica é importante para a formação de filmes finos sobre os eletrodos, visto que permitirá a coexistência de material cerâmico exposto e material polimérico condutor para facilitar a mobilidade de cargas, facilitando assim o processo de sensoriamento dos analitos voláteis. Empregou-se a espectroscopia de impedância para analisar como essas plataformas respondiam a estímulos elétricos. Na Figura 3 (b) e (c) percebe-se que os nanocompósitos obtidos apresentam valores de resistência menores do que os materiais inorgânicos puros, indicando a boa viabilidade na utilização deles no monitoramento de gases. Medidas empregando diferentes voláteis estão em andamento, e deverão estar finalizadas nos próximos meses.

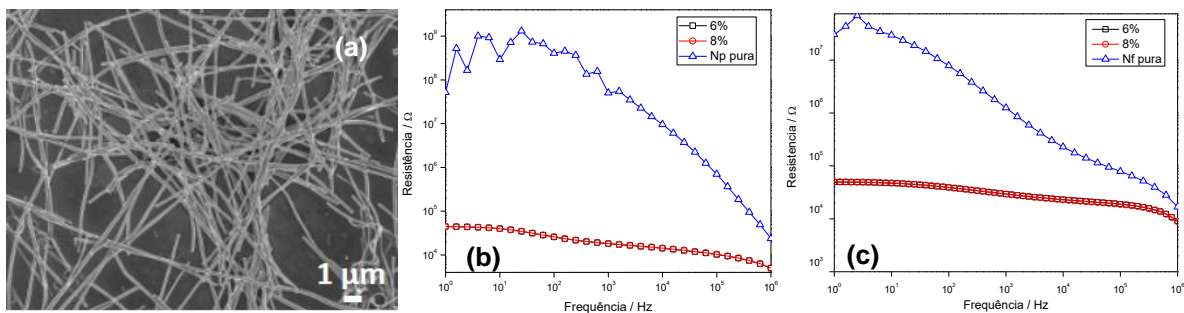


Figura 3. Caracterização dos filmes de nanocompósitos formados (a) MEV-FEG, (b) Medida elétrica para o nanocompósito de nanopartículas e (c) Medida elétrica para o nanocompósito de nanofibra.

## 4. Conclusões

Com a rota de síntese utilizada foi possível obter nanopartículas com morfologia, tamanho e fase cristalina controlada. O processo de eletrofição permitiu a obtenção de fibras homogêneas, em escala nanométrica e na fase anatase. Dessa forma, os materiais cerâmicos puderam ser empregados na obtenção de plataformas híbridas com polímero condutor. Os dois conjuntos idealizados baseados em nanofibras de  $\text{TiO}_2$  e nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  modificados com PEDOT:PSS apresentaram desempenhos satisfatórios, evidenciando o grande potencial deste material como camada ativa de sensores empregados no monitoramento de voláteis.



### Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, a FAPESP (2018/08012-1), MCTI-SisNAo e Rede Agronano-Embrapa.

### Referências

- ANDRE, R. S. et al. Improving the electrochemical properties of polyamide 6/polyaniline electrospun nanofibers by surface modification with ZnO nanoparticles. **RSC Adv.**, v. 5, n. 90, p. 73875–73881, 2015.
- ANDRE, R. S. et al. Sensitive and Selective NH<sub>3</sub> Monitoring at Room Temperature Using ZnO Ceramic Nanofibers Decorated with Poly(styrene sulfonate). **Sensors**, v. 18, n. 4, 2018.
- BASU, S.; AGRAWAL, A. K.; JASSAL, M. Concept of minimum electrospinning voltage in electrospinning of polyacrylonitrile N,N-dimethylformamide system. **Journal of Applied Polymer Science**, 2011.
- BHARDWAJ, A. et al. Influence of sintering temperature on the physical, electrochemical and sensing properties of  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-SnO<sub>2</sub> nanocomposite sensing electrode for a mixed-potential type NO<sub>x</sub> sensor. **Ceramics International**, v. 45, n. 2, p. 2309–2318, 1 fev. 2019.
- GEORGAKOPOULOS, D.; JAYARAMAN, P. P. Internet of things: from internet scale sensing to smart services. **Computing**, 2016.
- HUANG, L. et al. **Electrical gas sensors based on structured organic ultra-thin films and nanocrystals on solid state substrates** *Nanoscale Horizons*, 2016.
- NEMADE, K. R.; BARDE, R. V.; WAGHULEY, S. A. Liquefied petroleum gas sensing by Al-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles synthesized by chemical and solid-state diffusion routes. **Journal of Taibah University for Science**, v. 10, n. 3, p. 345–351, 2015.
- PANG, Z. et al. A room temperature ammonia gas sensor based on cellulose/TiO<sub>2</sub>/PANI composite nanofibers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 494, p. 248–255, 2016.
- RHEAUME, J. M.; PISANO, A. P. **A review of recent progress in sensing of gas concentration by impedance change** *Ionics*, 2011.
- SINGH, E.; MEYYAPPAN, M.; NALWA, H. S. **Flexible Graphene-Based Wearable Gas and Chemical Sensors** *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2017.
- SONKER, R. K.; SABHAJEET, S. R.; YADAV, B. C. TiO<sub>2</sub>-PANI nanocomposite thin film prepared by spin coating technique working as room temperature CO<sub>2</sub> gas sensing. **Journal of Materials Science: Materials in Electronics**, v. 27, n. 11, p. 11726–11732, 2016.
- WAGNER WEICK, C. Agribusiness technology in 2010: Directions and challenges. **Technology in Society**, 2001.

**ESTUDO DO CRESCIMENTO *IN SITU* DA POLIANILINA EM DIFERENTES  
CONDIÇÕES E A RESPOSTA DE FOTOCORRENTE**A. A. Correa<sup>1,2,\*</sup>, M. A. de Araújo<sup>3</sup>, L. H. Mascaro<sup>3</sup>, L. H. C. Mattoso<sup>2</sup>, J. M. Marconcini<sup>2</sup><sup>1</sup> Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luiz, km 235, CEP: 13565-905,<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, CEP: 13560-970, São Carlos, São Paulo<sup>3</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luiz, km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: alealvescorrea@gmail.com

**Resumo:** Este trabalho apresenta o estudo da fotoeletroatividade da polianilina (PANI) preparada em síntese *in situ* modificando algumas condições de preparação do material. O substrato utilizado foi o óxido de estanho (IV) dopado com flúor sobre vidro (FTO). Foram estudados os filmes de polianilina e polianilina depositada sobre 10 uL de nanotubo de carbono (NTC). Para os filmes de PANI sobre NTC foi avaliado o efeito da temperatura de síntese. Foi realizado ainda um estudo da quantidade de NTC depositado antes do polímero. A presença de NTC e a diminuição da temperatura de síntese melhora a resposta de fotocorrente da polianilina.

**Palavras-chave:** polianilina, nanotubo de carbono, fotocorrente, temperatura.

***STUDY OF IN SITU GROWTH OF POLYANILINE AT DIFFERENT CONDITIONS AND THE FOTOCURRENT RESPONSE***

**Abstract:** This paper presents the photocurrent response of polyaniline (PANI) prepared in situ synthesis modifying some material preparation conditions. The substrate used was fluorine doped tin oxide (IV) on glass (FTO). Polyaniline films and polyaniline films deposited on 10 µL of carbon nanotube (CNTs) were studied. For the PANI films on CNTs, the effect of synthesis temperature was evaluated. A study of the amount of NTC deposited before the polymer was also performed. The presence of CNTs and decreased synthesis temperature improves the polyaniline photocurrent response.

**Keywords:** polyaniline, carbon nanotube, photocurrent, temperature.

**1. Introdução**

Polímeros condutores e seus compósitos têm sido amplamente utilizados em vários campos incluindo eletrônicos, mecânicos, óticos e outros (SHIRAKAWA et al., 1977; SNOOK et al., 2010; WANG et al., 2018). Entre os polímeros condutores, a polianilina (PANI) tem sido de grande interesse devido à sua facilidade de polimerização e relativamente alta condutividade elétrica (CIRIC-MARJANOVI, 2013). Com a grande gama de fatores vantajosos, a polianilina é utilizada como material ativo em sensores químicos, diodos emissores de luz, capacitores etc. (DUTTA et al., 2005; KANETO et al., 1995; KIM et al., 2007; LI et al., 2008).

As estruturas moleculares dos polímeros condutores apresentam uma característica em comum: longos sistemas  $\pi$  conjugados, ou seja, uma alternância de ligações simples e duplas ao longo da cadeia. Somente esta conjugação, entretanto, não é suficiente para gerar uma condutividade considerável, sendo necessária uma variação parcial de carga, ou seja, uma oxidação ou redução parcial do polímero para que valores consideráveis sejam alcançados (EPSTEIN; MACDIARMID, 1995; MACDIARMID; EPSTEIN, 1995; GENIES et al., 1990; STEJSKAL et al., 2002; SKOTHEIM et al., 1986; HEEGER et al., 1988).

Nos polímeros condutores, a diferença de energia entre as bandas de valência (BV) e de

condução (BC) é chamada de *band gap*, assim, com o processo de dopagem, são gerados estados de energia intermediários entre a BV e a BC, fazendo com que haja uma reação redox, com formação de cargas, que devem ser eletricamente contrabalançadas por íons do dopante (EPSTEIN; MACDIARMID, 1995; MACDIARMID; EPSTEIN, 1995).

Nanotubos de carbono (CNTs) são muito versáteis e podem ser aplicados em diferentes dispositivos eletroquímicos. Os nanotubos podem ser compostos por um único cilindro (nanotubos de parede única), como por vários cilindros concêntricos (nanotubos de paredes múltiplas). Essa diferente forma de organização, juntamente com outros fatores como o raio do tubo, dita grande parte das propriedades dessa classe de material. São materiais nanoestruturados, com propriedades únicas como alta resistência à tração, alta condutividade térmica e bons condutores (UMMETHALA et al., 2016).

Na literatura são reportados poucos estudos de fotoeletroatividade da polianilina (CHOI et al., 2018) e assim, é bastante interessante o estudo fotoeletroquímico dos filmes de PANI para aplicação em células fotoeletroquímicas.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Reagentes

A anilina utilizada foi da marca Sigma-Aldrich e foi destilada previamente. O ácido clorídrico (HCl) utilizado foi da marca Synth e o persulfato de amônio,  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ , da marca Neon. Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) (pureza de 95%, comprimento de 5–15  $\mu\text{m}$ , diâmetro de 20–40 nm) foram adquiridos da Shenzhen Nanotech Port Co., Ltd – China (<http://www.nanotubes.com.cn/>). Todas as soluções aquosas foram preparadas com água ultra pura do sistema Millipore Milli-Q ( $>18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ ).

### 2.2. Equipamentos

Os experimentos eletroquímicos foram realizados usando um potenciostato/galvanostato Autolab, modelo PGSTAT30 (Eco Chemie, Utrecht, Netherlands), controlado pelo software Nova 1.11.

Uma célula para três eletrodos com janela de quartzo foi utilizada para as medidas de fotocorrente. Como eletrodo de trabalho foi utilizado o óxido de estanho (IV) dopado com flúor sobre vidro (FTO) modificado com polímero. Como eletrodo auxiliar foi utilizado platina e como eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl, saturado). A solução utilizada para as medidas de fotocorrente foi sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e pH 2,0.

Medidas de cronoamperometria foram usadas na caracterização do material, aplicando um potencial de 0,5 V por um tempo de 180 segundos, sendo que inicialmente o sistema foi mantido 60 segundos no escuro e depois foi intercalando 20 segundos no claro e 20 segundos no escuro até atingir 180 segundos. A fonte de luz foi uma lâmpada de UV com irradiância de  $100 \text{ mW cm}^{-2}$  e comprimento de onda de 365 nm (ThorsLabs).

A caracterização morfológica dos filmes foi feita usando um microscópio eletrônico de varredura de alta resolução (FEG-SEM), (Zeiss modelo Supra 35).

### 2.3. Síntese do material

A polianilina foi sintetizada usando  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de ácido clorídrico (HCl),  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de persulfato de amônio,  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  e  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de anilina. A razão molar monômero/oxidante foi de 1:1. A polianilina foi polimerizada “*in situ*” sobre um substrato de vidro condutor (óxido de estanho IV dopado com flúor, FTO). O persulfato de amônio foi o oxidante da reação e este foi adicionado lentamente no meio reacional (gota a gota), sendo que a reação foi mantida sob agitação, em temperatura de  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ , durante 1 hora. Ao término da reação o eletrodo foi lavado com HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e depois com água.

Para a polianilina depositada sobre nanotubo de carbono, realizou-se o mesmo procedimento de síntese da polianilina, entretanto, no eletrodo de FTO foi depositado previamente o nanotubo de

carbono. A deposição de 10  $\mu\text{L}$  da solução de nanotubo de carbono foi feita por “*casting*”, sendo que a solução foi preparada contendo 1,0 mg de nanotubo de carbono em 1,0 mL de dimetilformamida e foi agitada no ultrassom durante uma hora.

Após a preparação dos eletrodos de trabalho estes foram inseridos na célula eletroquímica e realizadas as medidas de cronoamperometria.

### 3. Resultados e Discussão

A Figura 1a apresenta as medidas de densidade de fotocorrente para o filme de polianilina e para o filme de polianilina depositado sobre nanotubo de carbono. A Figura 1b apresenta as medidas de densidade de fotocorrente para o filme de polianilina depositado sobre nanotubo de carbono, sendo que a polianilina foi sintetizada em diferentes temperaturas.

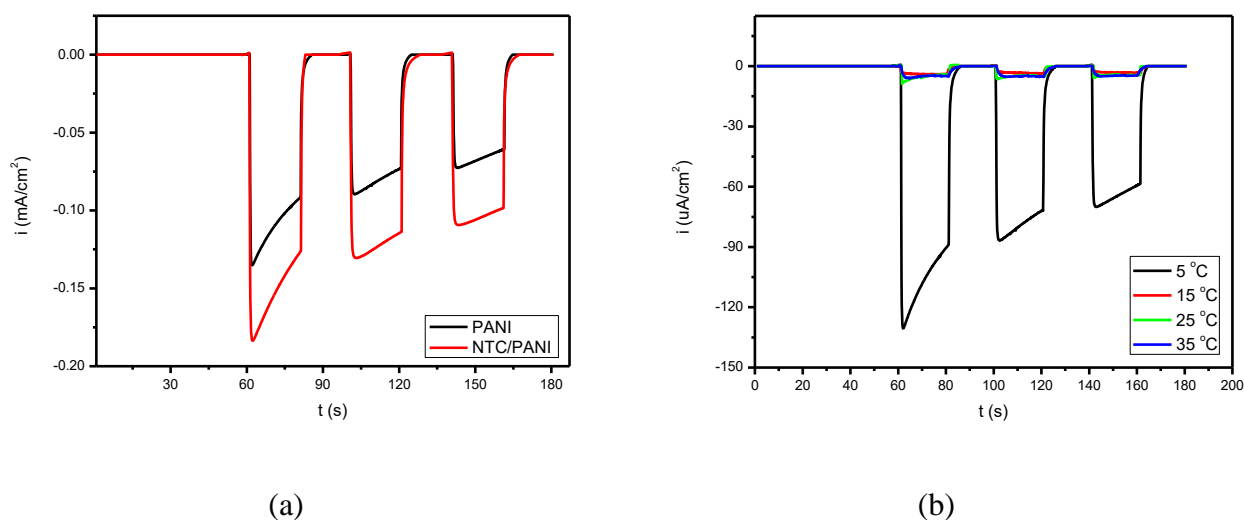


Figura 1. (a) Resposta de fotocorrente para o filme de polianilina e para o filme de polianilina depositado sobre nanotubo de carbono. Os filmes foram sintetizados na temperatura de 5 °C. (b) Resposta de fotocorrente para o filme de polianilina depositado sobre nanotubo de carbono, sendo a síntese da polianilina realizada em diferentes temperaturas.

O valor de densidade de fotocorrente obtido para o filme da polianilina foi de  $-77 \mu\text{A cm}^{-2}$  e para o filme de polianilina depositado sobre nanotubo de carbono foi de  $-90 \mu\text{A cm}^{-2}$ . Desta forma, pode ser observado que a camada de nanotubo de carbono antes da deposição da polianilina apresenta melhora no valor da densidade de fotocorrente, pois a presença do nanotubo de carbono provavelmente melhora a condutividade do material.

Os valores de densidade de fotocorrente obtidos para o filme de polianilina depositado sobre nanotubo de carbono em diferentes temperaturas foi:  $-90 \mu\text{A cm}^{-2}$  em 5 °C,  $-4,7 \mu\text{A cm}^{-2}$  em 15 °C,  $-4,2 \mu\text{A cm}^{-2}$  em 25 °C e  $-5,3 \mu\text{A cm}^{-2}$  em 35 °C. A síntese da polianilina sobre nanotubo de carbono em temperatura de 5°C apresentou o melhor valor de densidade de fotocorrente. Na literatura já é bem conhecido que a síntese da PANI em baixas temperaturas provoca um aumento no peso molecular do polímero, aumento da cristalinidade e aumento da condutividade (YILMAZ; KÜÇÜKYAVUZ, 2009).

A Figura 2 apresenta a morfologia dos filmes de polianilina depositados sobre nanotubo de carbono, sendo que síntese do polímero foi realizada em diferentes temperaturas.

Através da Figura 2 pode ser observado que com o aumento da temperatura de síntese do polímero diminui a estrutura fibrilar do material e isto causa uma diminuição na resposta da densidade de fotocorrente. Com o aumento da temperatura deve ocorrer uma diminuição no peso molecular do polímero, já que fibras mais finas são formadas e, portanto, deve ocorrer uma diminuição da condutividade do material (YILMAZ; KÜÇÜKYAVUZ, 2009).

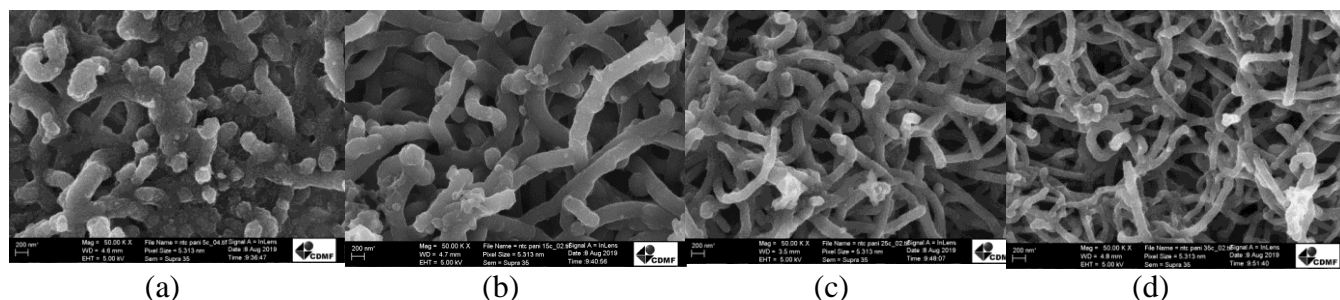


Figura 2. Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos filmes de polianilina depositados sobre nano tubo de carbono. O polímero foi sintetizado em diferentes temperaturas. (a) 5 °C, (b) 15 °C, (c) 25 °C e (d) 35 °C.

Como observado nos resultados obtidos, a presença de nanotubo de carbono melhora o efeito da densidade de fotocorrente e então, decidiu-se testar variações nas quantidades de nanotubo de carbono depositados nos eletrodos e os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Quantidade de nanotubo de carbono depositado no eletrodo antes da síntese do polímero e a respectiva resposta da densidade de fotocorrente após a deposição do polímero.

Nanotubo de carbono ( $\mu\text{L}$ )	Valor da densidade de fotocorrente ( $\text{mA cm}^{-2}$ )
10	-77
20	-81
30	-160
50	- 40

Após os testes de deposição de diferentes quantidades de nanotubo de carbono antes da deposição da polianilina observou-se que com a adição de 30  $\mu\text{L}$  de nanotubo de carbono obteve-se a melhor resposta de densidade de fotocorrente.

#### 4. Conclusões

A presença do filme de nanotubo de carbono antes da síntese *in situ* da polianilina melhora a resposta de densidade de fotocorrente do material. A diminuição da temperatura de síntese provoca melhora na resposta de fotoeletroresposta do polímero. Nestas condições, provavelmente tem-se polímeros com condutividades elevadas e por isso a melhora na fotoeletroatividade para a reação de desprendimento de gás hidrogênio.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES-PNPD, Processo FAPESP nº 2016/12681-0, CNPq, Rede AgroNano/Embrapa e SISNANO/MCTI.

#### Referências

- CHOI, J.; JANG, S. K.; and KIM, F. S. Effects of Doping States of Polyaniline Thin Films on Their Photo-Responsive Properties under Visible and Near-Infrared Irradiation, *Physica Status Solidi A*, v. 215, p. 1701019-1701024, 25 mar. 2018.
- CIRIC-MARJANOVI, G. Recent advances in polyaniline research: Polymerization mechanisms, structural aspects, properties and applications. *Synthetic Metals*, v. 177, p. 1-47, 10 jun. 2013.
- DUTTA, D.; SARMA, T. K.; CHOWDHURY, D.; CHATTOPADHYAY, A. J. A polyaniline-containing filter paper that acts as a sensor, acid, base, and endpoint indicator and also filters acids and bases. *Journal of Colloid Interface Science*, v. 283, p. 153-159, 15 jan. 2005.
- EPSTEIN, A. J., MACDIARMID, A. G. Polyanilines: from solitons to polymer metal, from

- chemical curiosity to technology. *Synthetic Metals*, v. 69, p. 179-182, I march. 1995.
- GENIES, E. M.; BOYLE, A.; LAPKOWSKI, M.; TSINTAVIS, C. Polyaniline – a historical survey. *Synthetic Metals*, v. 36, p. 139-182, 22 jan. 1990.
- HEEGER, A. J.; KIVELSON, S.; SCHRIEFFER, J. R.; SU, W. P. Solitons in conductive polymers. *Reviews of Modern Physics*, v. 60, p. 781-851, 1 jul. 1988.
- KANETO, K.; KANEKO, M.; MIN, Y.; MACDIARMID, A. G. “Artificial muscle”:  
Electrochemical actuators using polyaniline film. *Synthetic Metals*, v. 71, p. 2211-2212, 1 abr. 1995.
- KIM, J.; YUN, S.-R.; DESHPANDE, S. D. Synthesis, characterization and actuation behavior of polyaniline-coated electroactive paper actuators. *Polymer International*, v. 56, p. 1530-1536, dez. 2007.
- LI, Q.; WU, J.; TANG, Q.; LAN, Z.; LI, P.; LIN, J.; FAN, L. Application of microporous polyaniline counter electrode for dye-sensitized solar cells. *Electrochemical Communication*, v. 10, p. 1299-1302, 27 jun. 2008.
- MACDIARMID, A. G.; EPSTEIN, A. J. Secondary doping in polyaniline, *Synthetic Metals*, v. 69, p. 85-92, 1 mar.1995.
- SHIRAKAWA, H.; LOUIS, E. J.; MACDIARMID, A. G.; CHIANG, C. K.; HEEGER, A. J. Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene, (CH)<sub>x</sub>. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, v 0, p. 578-580, 1 jan. 1977.
- SKOTHEIM, T. A.; EISENBAUMER, R. L., REUNOLDS, J. R. *Handbook of Conducting Polymers*, Marcel Dekker, Inc, N.York, p. 1-1059, 1986.
- SNOOK, G. A.; KAO, P., BEST, A. S. Conducting-polymer-based supercapacitor devices and electrodes *Journal of Power Sources*, v. 196, p. 1-12, 18 jun. 2010.
- STEJSKAL, J., GILBERT, R. G. Polyaniline. Preparation of a conductive polymer (IUPAC technical report), *Pure and Applied Chemistry*, v. 74, p. 857-867, 1 maio 2002.
- UMMETHALA, R.; WENGER, D. TEDDE, S. F.; Taschner, C.; Leonhardt, A.; Buchner, B.; Eckert, J. Effect of substrate material on the growth and field emission characteristics of large-area carbon nanotube forests. *Journal Applied Physics*, v 119, p. 443021-443028, 11 jan. 2016.
- YILMAZ, F; KÜÇÜKYAVUZ; Z. The influence of polymerization temperature on structure and properties of polyaniline. *e-Polymers*, v. 5, p. 1-10, 31 jan.2009.
- WANG, X. D.; LIU, X. H.; YUAN, H. Y.; LIU, H.; LIU, C. T.; LI, T.; YAN, C.; YAN, X.; SHEN, C; Guo, Z. Non-covalently functionalized graphene strengthened poly(vinyl alcohol). *Material & Design*, v. 139, p. 372-379, 5 fev. 2018.

**MEMBRANAS FIBROSAS ASSIMÉTRICAS PRODUZIDAS POR FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO UTILIZANDO BORRACHA NATURAL, POLI(ÁCIDO LÁTICO) E NANOPARTÍCULAS DE ZNO**V. P. V. Costa<sup>1,2,\*</sup>, D. M. Santos<sup>2</sup>, R. S. Andre<sup>2</sup>, D. S. Corrêa<sup>1,2</sup><sup>1</sup> PPG Biotec, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Rodovia Washington Luís km 235, S/N, 13565-905, São Carlos, São Paulo<sup>2</sup> Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), EMBRAPA Instrumentação, Rua XV de Novembro, nº1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: vittor.p.costa@gmail.com

**Resumo:** Membranas assimétricas são materiais com aplicação promissora como curativos, e o uso de polímeros naturais, além do apelo ecológico, melhora a sua biocompatibilidade e biodegradação. Foram produzidas membranas assimétricas fibrosas, produzidas por fiação por sopro em solução, compostas de uma camada de blenda borracha natural - poli(ácido lático) (PLA) e uma camada suporte de PLA puro, sem e com adição de nanopartículas de ZnO nas proporções 1%, 2,5% e 5% m/m em relação à camada suporte. As membranas foram investigadas para verificação de interações entre os componentes por Espectroscopia em Infravermelho, Termogravimetria e Ângulo de Contato. Os resultados revelaram que, embora a adição de ZnO catalise a degradação térmica do PLA, não se observou alterações químicas nos componentes, indicando que a combinação destes e o processo de fiação não afetam sua aplicabilidade.

**Palavras-chave:** Hevea brasiliensis, airbrush, nanofibras, blenda polimérica

***SOLUTION BLOW SPUN ASYMMETRIC FIBROUS MEMBRANES USING NATURAL RUBBER, POLY(LACTIC ACID) AND ZNO NANOPARTICLES***

**Abstract:** Asymmetric membranes are materials with promising applications as wound dressings and the use of natural polymers, besides the ecological appeal, can improve its biocompatibility and biodegradability. Asymmetric fibrous membranes were produced by solution blow spinning using natural rubber – poly(lactic acid) (PLA) blend layer, and a supporting layer of PLA, pure or with addition of ZnO nanoparticles in the proportions of 1%, 2.5% and 5% m/m relative to the supporting layer. The membranes were analyzed through Infra-red Spectroscopy, Termogravimetry and Contact Angle measurements. The results revealed that although the ZnO presence can catalyse PLA thermal degradation, no chemical changes were observed in the components, indicating that their combination and the spinning process do not affect their applicability.

**Keywords:** Hevea brasiliensis, airbrush, nanofibers, polymer blend

**1. Introdução**

Nanomateriais são materiais promissores em uma grande variedade de aplicações devido ao aumento de superfície disponível, útil para usos em filtros, arcabouços para crescimento celular e sensores, e também porque materiais processados em escala manométrica apresentam maior energia superficial e reatividade, o que provoca mudanças em propriedades sem alteração da composição química (CAO, 2004). A Fiação por Sopro em Solução (SB-Spinning) é uma técnica que permite a produção de nanofibras poliméricas e a aspersão de soluções através de um sistema de cânulos concêntricos, no qual a solução com vazão controlada encontra um fluxo constante de ar que é capaz de estirá-la, levando à formação das fibras.

O SB-spinning apresenta alto rendimento, baixo custo operacional e é facilmente escalonável, além de possibilitar a deposição do material em virtualmente qualquer superfície, inclusive sistemas biológicos (MEDEIROS et al., 2009). Nem todos os polímeros podem ser fiados diretamente, o que pode requerer aditivos para auxiliar na sua estabilidade, plasticidade ou mesmo

manuseabilidade. Membranas assimétricas, materiais que apresentam duas camadas com propriedades distintas, encontram grande aplicabilidade como curativos pela possibilidade de simultaneamente estimularem a adesão celular e recuperação tecidual em uma face, atuar como barreira a microrganismos infecciosos em outra camada e permitirem que a ferida respire e mantenha-se em nível adequado de hidratação (MORGADO; AGUIAR-RICARDO; CORREIA, 2015).

A BN é um polímero obtido da seiva da *Hevea brasiliensis*, árvore nativa da Amazônia. A BN é extensamente utilizada como material por seu baixo custo, facilidade de obtenção e propriedades mecânicas de elastômero. Como biomaterial, apresenta biocompatibilidade adequada, e proteínas presentes no soro do látex possuem propriedades angiogênicas, promissoras em aplicações em curativos (FERREIRA; COUTINHO-NETTO; MULATO, 2009; HERCULANO et al., 2010).

O poli(ácido lático) (PLA) resulta da polimerização do ácido lático, que pode ser obtido de diversos resíduos agroindustriais fermentescíveis por bactérias lácticas. É um polímero rígido, compostável e apresenta biodegradação lenta (MURARIU; DUBOIS, 2016), o que significa que pode ser utilizado como biomaterial de longa duração.

O zinco, elemento traço no corpo humano, está diretamente relacionado ao funcionamento de diversas funções biológicas, entre elas a capacidade de regeneração de feridas, embora apresente atividade citotóxica em quantidades elevadas. Assim, a administração de óxido de zinco (ZnO) de maneira controlada a regiões lesionadas é uma possibilidade para acelerar o processo de recuperação tecidual (LANSDOWN et al., 2007).

Este trabalho tem como objetivo observar as possíveis interações entre os componentes de uma membrana assimétrica produzida por SB-Spinning, composta por BN e PLA, sem e com adição de NPs de ZnO, e dessa forma verificar se a produção do material poderia alterar propriedades apresentadas pelos componentes quando isolados.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Materiais utilizados

O látex de seringueira utilizado recebeu adição de água destilada, foi centrifugado a 8000 rpm e 15°C por 2h. A fase leve foi recuperada, recebeu nova adição de água e foi re-centrifugada nas mesmas condições por 1h. A fase leve resultante foi seca em estufa de circulação de ar forçada a 30°C por 5 dias. Para o preparo da blenda com a BN, utilizou-se o PLA 3251D, e para a camada suporte, PLA 4060D, ambos da Nature Works (Minnetonka, EUA). As NPs de ZnO utilizadas foram produzidas e caracterizadas por R. S. Andre et al. (2015). Os solventes utilizados foram clorofórmio P.A. (Synth, Diadema, São Paulo), ácido fórmico PA. (Êxodo Científica, Sumaré, São Paulo) e N,N-dimetilformamida (DMF) (Synth, Diadema, São Paulo).

### 2.2. Preparo das soluções e fiação

Para a blenda, foram dissolvidos 2% m/v de BN e 1% m/v de PLA em uma combinação de clorofórmio e ácido fórmico na proporção 98:2 v/v. A solução da camada suporte foi produzida com PLA a 12% m/v dissolvido em clorofórmio-DMF na proporção 4:1. Nos casos de adição de ZnO, o volume de DMF foi utilizado para suspender as NPs, e então foi adicionado à solução da camada suporte.

A fiação foi realizada sobre um coletor com velocidade rotacional de 180 rpm, com temperatura ambiente oscilando entre 24 e 28 °C e umidade relativa do ar entre 30 e 50%. Primeiramente, foi fiada a camada suporte, sobre a qual a blenda foi fiada. As mantas de nanofibras obtidas foram envelopadas em folha de alumínio e mantidas em dessecador.

### 2.3. Análise das membranas assimétricas

As membranas obtidas por SB-Spinning foram analisadas por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), na região de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>, e comparadas



com os componentes puros, a fim de se detectar possíveis alterações no perfil de ligações químicas. Amostras das membranas foram submetidas à Termogravimetria (TG) em atmosfera não-oxidativa para investigação da alteração da estabilidade térmica, e ao teste de Ângulo de Contato (AC), usando-se água Milli-Q, para determinação da hidrofobicidade do material.

### 3. Resultados e Discussão

A análise por FTIR (Figura 1) revela que não há uma alteração no perfil de ligações químicas dos polímeros, apenas uma sobreposição destes. Ou seja, BN e PLA tendem a formar uma blenda imiscível, e o ZnO interage com o PLA da camada suporte através de ligações secundárias.

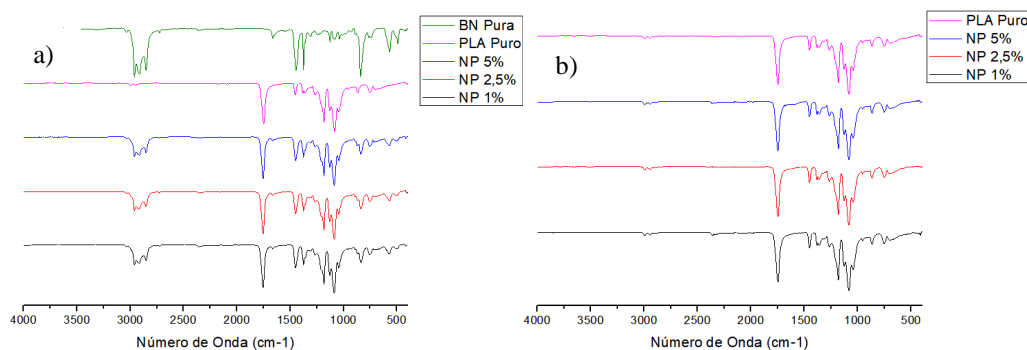


Figura 1. Análise por FTIR das camadas a) da blenda BN-PLA e b) da camada suporte.

Ao mesmo tempo em que a literatura indica que o ZnO catalisa a degradação térmica do PLA em temperaturas mais baixas (ABE et al., 2004), ele atua como ativador de cura da BN (SAHOO et al., 2007), não afetando a sua estabilidade térmica por si só. A análise das curvas obtidas por TG e DTG (Figura 2 e Tabela 1) confirma que a presença de ZnO catalisa a pirólise do PLA, mas não interfere de maneira significativa na BN.

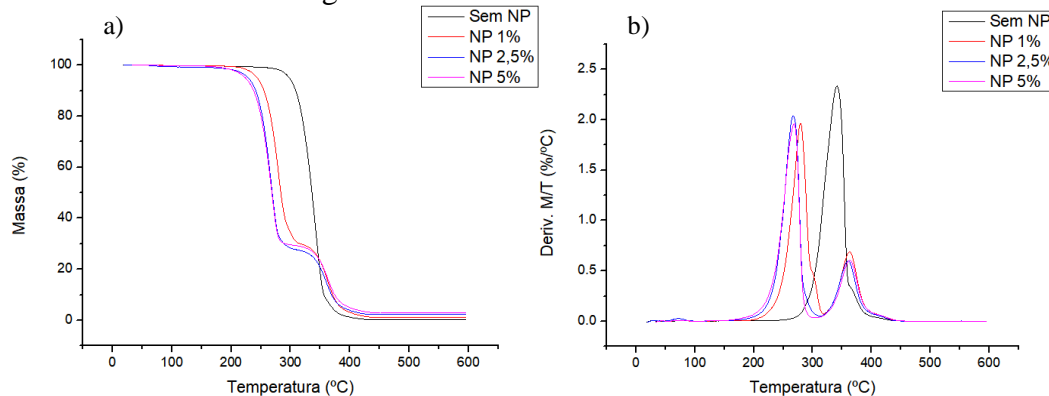


Figura 2. a) TG e b) DTG das amostras com e sem adição de ZnO.

Tabela 1. Resultados da TG de cada membrana assimétrica

	T. onset 1 (°C)	T. Max 1 (°C)	Perda de massa 1 (%)	T. onset 2 (°C)	T. Max 2 (°C)	Perda de massa 2 (%)	Resíduo Carbonizado (%)
Sem NP	-	-	-	315.6	341.49	98.64	0.21
NP 1	259.78	279.43	69.19	344.79	362.88	28.56	1.20
NP 2,5	246.9	266.93	70.37	341.65	360.56	25.22	2.30
NP 5	245.53	268.45	68.8	343.28	363.25	26.38	2.94

O teste de AC (Figura 3) mostra que há uma variação estatisticamente significativa, mas o

material ainda apresenta hidrofobicidade (valor do ângulo superior a 90°), o que poderia ser explicado por uma diferença na porosidade das membranas, uma vez que as outras análises demonstram que não há alterações químicas nos componentes.

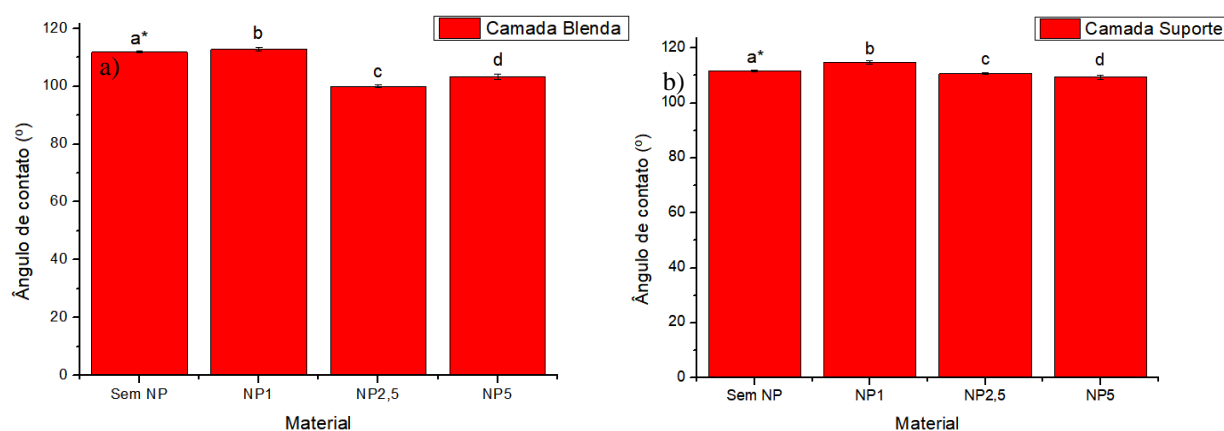


Figura 3. Análise do AC a) na camada da blenda e b) na camada suporte. \*Médias seguidas de pelo menos uma letra igual indicam que não há diferença estatística ( $p > 0,05$ ).

#### 4. Conclusões

BN e PLA formam uma blenda imiscível, e a sua fiação conjunta não provoca uma melhora na interação entre eles. A adição de NPs de ZnO interfere na estabilidade térmica do PLA, mas não apresenta efeitos na interação entre os dois polímeros. Os resultados preliminares indicam que uma membrana assimétrica produzida a partir destes materiais pode ser viável para uso como curativo, mas experimentos complementares ainda se fazem necessários, os quais serão realizados como próximas etapas do projeto.

#### Agradecimentos

Os autores são gratos ao CNPq (Processo 131768/2018-2), FAPESP, CAPES – Código de Financiamento 001, MCTI-SisNano e Rede Agronano-Embrapa.

#### Referências

- ABE, H. et al. Thermal degradation processes of end-capped poly(L-lactide)s in the presence and absence of residual zinc catalyst. *Biomacromolecules*, v. 5, n. 4, p. 1606–1614, 2004.
- ANDRE, R. S. et al. Improving the electrochemical properties of polyamide 6/polyaniline electrospun nanofibers by surface modification with ZnO nanoparticles. *RSC Advances*, v. 5, n. 90, p. 73875–73881, 2015.
- CAO, G. *Nanostructures & nanomaterials: synthesis, properties & applications*. 1<sup>a</sup> ed. London: Imperial College Press, 2004.
- FERREIRA, M.; COUTINHO-NETTO, R. J. M. E J.; MULATO, M. Angiogenic Properties of Natural Rubber Latex Biomembranes and The Serum Fraction of. v. 39, n. 3, p. 564–569, 2009.
- HERCULANO, R. D. et al. Metronidazole Release Using Natural Rubber Latex as Matrix. *Materials Research-Ibero-American Journal of Materials*, v. 13, n. 1, p. 57–61, 2010.
- LANSDOWN, A. B. G. et al. Zinc in wound healing: Theoretical, experimental, and clinical aspects. *Wound Repair and Regeneration*, v. 15, n. 1, p. 2–16, 2007.
- MEDEIROS, E. S. et al. Solution Blow Spinning: A New Method to Produce Micro- and Nanofibers from Polymer Solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 113, n. 4, p. 2322–2330, 2009.
- MORGADO, P. I.; AGUIAR-RICARDO, A.; CORREIA, I. J. Asymmetric membranes as ideal wound dressings: An overview on production methods, structure, properties and performance relationship. *Journal of Membrane Science*, v. 490, p. 139–151, 2015.
- MURARIU, M.; DUBOIS, P. PLA composites: From production to properties. *Advanced Drug*

Delivery Reviews, v. 107, p. 17–46, 2016.

SAHOO, S. et al. Effect of zinc oxide nanoparticles as cure activator on the properties of natural rubber and nitrile rubber. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 105, n. 4, p. 2407–2415, 15 ago. 2007.

## MELHORIA NAS PROPRIEDADES DA FITASE APÓS SUA IMOBILIZAÇÃO EM HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÃO EM RAÇÃO ANIMAL

Coutinho, T. C.<sup>1,2,\*</sup>, Tardioli, P. W.<sup>2</sup>, Farinas, C. S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560970, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, 13565-905, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: [thamaraccoutinho@gmail.com](mailto:thamaraccoutinho@gmail.com)

**Resumo:** A fitase é uma enzima utilizada em ração animal pois degrada o fitato, fator antinutricional encontrado nos ingredientes da ração. Neste trabalho, avaliou-se a melhora nas propriedades da fitase após sua imobilização em nanopartículas de hidroxiapatita (HA). Os resultados mostraram que a fitase imobilizada em HA apresentou um perfil de atividade mais amplo para diferentes pHs e temperaturas, e maior resistência térmica a 80 e 90 °C após três horas de incubação. Isto indica que a atividade catalítica da fitase imobilizada pode ser mantida estável ao passar pela etapa de fabricação da ração chamada de peletização, que ocorre sob condições de altas temperaturas. A fitase imobilizada em HA ainda demonstrou boa resistência sob condições ácidas (similar às condições gastrointestinais) e resistência à proteólise. Os resultados sugerem que a fitase imobilizada em nanopartículas de hidroxiapatita apresenta aplicações promissoras na ração animal.

**Palavras-chave:** fitase, imobilização enzimática, hidroxiapatita, ração animal.

### **IMPROVEMENT ON PHYTASE PROPERTIES AFTER ITS IMMOBILIZATION ON HYDROXYAPATITE FOR USE IN ANIMAL FEED**

**Abstract:** Phytase is an enzyme inserted in animal feed because it degrades the antinutritional factor phytate, which is found in the feed ingredients. In this work, we evaluated the improvement in phytase properties after its immobilization in hydroxyapatite (HA) nanoparticles. The results showed that the immobilized phytase presented a broader activity profile for pH and temperature, and higher resistance at 80 and 90 °C after three hours of incubation, indicating that the derivative can maintain its catalytic activity after the pelletizing step, which is carried out under high temperatures during the manufacture of feed. Besides, phytase immobilized on HA showed good resistance under acidic conditions (similar to gastrointestinal conditions) and resistance to proteolysis. The results suggest that phytase immobilized on hydroxyapatite nanoparticles has promising applications in animal feed.

**Keywords:** phytase, enzymatic immobilization, hydroxyapatite, animal feed.

### **1. Introdução**

A enzima fitase é especializada na liberação de resíduos de fosfato e mio-inositol a partir do fitato (hexosfosfato de inositol). As proteínas vegetais utilizadas como ingredientes de ração animal, como os derivadas de soja, trigo, milho e arroz, são ricas em fitato, o qual é considerado um fator antinutricional (Polaina e Maccabe, 2007). Por este motivo, a principal aplicação da fitase é como suplemento em ração animal, uma vez que animais como aves, porcos e peixes apresentam baixíssimos níveis de fitase em seus tratos gastrointestinais (Jain *et al.*, 2016). Entretanto, para uso em ração animal, a fitase deve apresentar alta atividade específica, estabilidade na faixa de pH do trato digestivo, resistência à proteólise e boa estabilidade durante a formulação da ração e o armazenamento. A instabilidade térmica da fitase é particularmente importante durante o processo de peletização da ração, o qual ocorre sob altas temperaturas, reduzindo consequentemente a atividade da fitase. (Cian *et al.*, 2018)

A técnica de imobilização enzimática pode fornecer maior resistência à desnaturação quando

a enzima é exposta à altas temperaturas, à ambientes ácidos e sob presença de proteases (Harati *et al.*, 2017). A hidroxiapatita (HA) é um material sólido inorgânico com excelentes propriedades físico-químicas para imobilização enzimática, pois além de não ser tóxica, apresenta elevada área superficial, insolubilidade e pode ser sintetizada como nanopartículas. A adsorção de proteínas nas nanopartículas de HA tem sido investigada em diferentes áreas, sendo que pesquisas recentes mostraram que interações de quelação entre os íons cálcio presentes na HA e os ácidos carboxílicos presentes nas enzimas podem ocorrer rapidamente, resultando em interações altamente estáveis e promissoras para a imobilização enzimática (Ivic *et al.*, 2016; Coutinho *et al.*, 2018).

Atrelada às excelentes características da HA para atuar como suporte para imobilização da fitase, ela também pode atuar como fonte de Ca e P para a nutrição animal, pois apresenta a composição química  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Portanto, o objetivo do presente trabalho foi investigar se houve melhorias nas propriedades da fitase após sua imobilização em nanopartículas de HA, a fim de ser potencialmente aplicada em ração animal, mais especificamente na melhora da atuação em pHs ácidos e no ganho de termoestabilidade.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Materiais

A enzima fitase (Nathufos<sup>®</sup>) utilizada neste trabalho foi produzida comercialmente pela Basf S/A (Mount Olive, EUA), obtida por uma cepa geneticamente modificada de *Aspergillus niger*, enquanto o suporte hidroxiapatita apresenta grau analítico e foi comprado da Sigma-Aldrich (101304727). Todos os outros reagentes apresentavam grau analítico.

### 2.2 Processo de imobilização

O processo de imobilização ocorreu com uma concentração de HA de 0,05 g/mL e carga enzimática de 5 mg proteína/g suporte. A interação enzima-suporte foi realizada em eppendorf de 2 mL, utilizando como tampão acetato de sódio, pH 5, 20 mM. Enzima e HA ficaram sob agitação suave por duas horas a 25 °C. O derivado obtido foi lavado duas vezes com o mesmo tampão de imobilização (centrifugando o derivado durante 2 min a 8000 rpm). Então, a concentração de proteína do sobrenadante das lavagens foi quantificada pelo método de Bradford (Bradford, 1976) para calcular o rendimento de imobilização (RI). A atividade enzimática do derivado final ( $A_{DE}$ ) foi medida em duplicata (pH 5, 37 °C), segundo método descrito por (Harland e Harland, 1980), com modificações, medindo a concentração de fósforo liberada do substrato fitato por método colorimétrico (utilizando espectrofotômetro,  $\lambda=660$  nm).

### 2.3 Perfil de atividade em diferentes pHs e temperaturas

O efeito do pH sobre a atividade da enzima (livre e imobilizada) foi avaliado na faixa de pH 2-8, fixando-se a temperatura de 37 °C. O efeito da temperatura sobre a atividade das enzimas (livre e imobilizada) foi investigado a 20, 30, 40, 50 e 60 °C, fixando-se o pH ótimo obtido. A maior atividade obtida nas faixas de temperatura ou pH empregados foi designada como 100%, enquanto as atividades em todas as temperaturas e pHs remanescentes foram calculadas como a Atividade Relativa (%) àquela mais alta.

### 2.4 Termoestabilidade da enzima imobilizada

A termoestabilidade da fitase livre e imobilizada foi determinada por incubação da enzima durante 3 horas nas temperaturas de 60, 70, 80 e 90 °C, no tampão de imobilização. Em intervalos de 15 min as amostras foram retiradas para realizar as medidas de atividade enzimática. A atividade obtida no tempo zero foi designada como 100% e as atividades em todos os tempos remanescentes foram calculadas como a atividade relativa (em %) à do tempo zero.

### 2.5 Simulação *in vitro* das condições gastrointestinais de animais e degradação por proteases

O efeito do ambiente ácido sobre a atividade da fitase livre e imobilizada foi avaliado em testes de simulação *in vitro* das condições gastrointestinais dos animais. Ambas as formas de fitase foram mantidas por 1 h em pH 2, 2,5 e 3 (tampão glicina-HCL), simulando o microambiente do estômago, e seguida, por 1 h em pH alcalino (tampão Tris-HCL, pH 7), simulando o microambiente do intestino. Em seguida, a atividade da enzima foi medida.

A fim de investigar a resistência à proteólise das duas formas de fitase, avaliou-se a degradação da fitase por pepsina e tripsina. A fitase foi colocada em contato com as proteases nas seguintes proporções: 2:1 e 10:1. A hidrólise da pepsina ocorreu sob condições estomacais simuladas, utilizando tampão glicina-HCL no pH 2,5 e 28 ° C; enquanto a hidrólise da tripsina ocorreu sob condições intestinais simuladas, utilizando tampão Tris-HCL no pH 7 e 28 ° C. Por fim, a atividade da enzima foi medida.

### 3. Resultados e Discussão

Toda a fitase oferecida ao suporte foi adsorvida em apenas 10 minutos do processo de imobilização, gerando um derivado com Atividade Recuperada superior a 100%, o que indica que a enzima tornou-se mais ativa após a ancoragem ao suporte. O efeito do pH e da temperatura na atividade da fitase livre e imobilizada foram avaliados a fim de compreender o comportamento da enzima em diferentes condições físico-químicas. Os resultados mostraram perfis de atuação mais amplos para a fitase imobilizada do que para a fitase livre, indicando maior faixa de atuação catalítica da enzima na forma imobilizada em condições adversas de pH e temperatura.

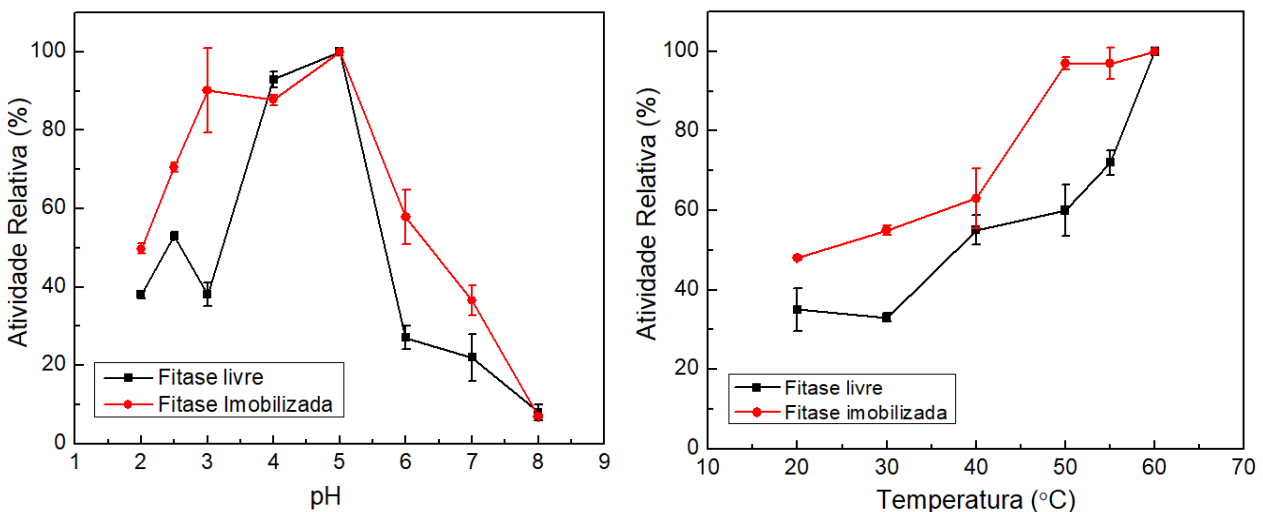


Figura 1. Perfis de atividade em diferentes (a) pHs e (b) temperaturas para a fitase livre e imobilizada em HA. As atividades relativas foram calculadas a partir das médias de duplicatas. A enzima foi imobilizada por 1 h a 25 ° C e pH 5 (tampão acetato de sódio, 20 mM).

O pH ótimo de atividade da fitase coincidiu com o pH 5 de imobilização (Fig. 1a), representando uma grande vantagem para o procedimento de imobilização empregado, uma vez que a enzima pode se ligar ao suporte em sua melhor conformação para atuar como biocatalisador. É interessante notar que a enzima imobilizada apresentou aumento na atividade relativa de 40 para 90% em pH 3 e de 23 para 38% em pH 7, sendo ambas condições possivelmente encontradas pela enzima nos tratos gastrointestinais de animais (Dersjant-Li *et al.*, 2015). A melhoria na atividade da enzima imobilizada em diferentes valores de pH da reação pode ser explicada pelo método de imobilização empregado. O potencial eletrostático do microambiente de enzimas imobilizadas na HA (a qual contém os grupos funcionais ionizados  $Ca^{2+}$  e  $PO_4^{3-}$ ) pode afetar a concentração local de  $H^+$ , influenciando o comportamento da enzima sob diferentes condições de pH.

Os perfis de atividade em diferentes temperaturas mostraram que a fitase imobilizada apresentou maior atuação em toda a faixa de temperatura testada em comparação com a fitase livre

(Fig. 1b). O aumento da atividade relativa em diferentes temperaturas para a enzima imobilizada tornou-se mais evidente a partir da diminuição da energia de ativação ( $E_a$ ) de 21 kJ/mol (para a enzima livre) para 16 kJ/mol para a fitase imobilizada. Esses resultados indicam que a energia necessária para atingir o estado de transição do fitato no sítio ativo da fitase tornou-se menor para a enzima imobilizada, sugerindo que alterações no estado conformacional da enzima após sua imobilização facilitaram o caminho da reação.

Os resultados de termoestabilidade mostraram que tanto a fitase livre quanto a imobilizada mostraram-se estáveis a 60 e 70 °C, embora a enzima livre tenha mostrado uma pequena diminuição da atividade relativa a 70 °C. Diferentemente, a 80 e 90 °C, o processo de desnaturação foi irreversível para a enzima solúvel, uma vez que a enzima livre perdeu completamente a atividade em 20 minutos. Por outro lado, a fitase imobilizada reteve quase 60% de sua atividade após 3 horas a 80 °C, enquanto cerca de 40% de atividade foi retida após 20 minutos a 90 °C. Provavelmente, a reação de coordenação entre os grupos de ácido carboxílico da enzima e os metais de  $Ca^{2+}$  da superfície do suporte resultaram em maior rigidez da estrutura tridimensional da fitase. Pode ter ocorrido uma preservação nas pontes dissulfeto que desempenham papel crucial no dobramento da fitase de *A. niger*, impactando num aumento considerável na estabilidade operacional em temperaturas elevadas (Ullah *et al.*, 2005).

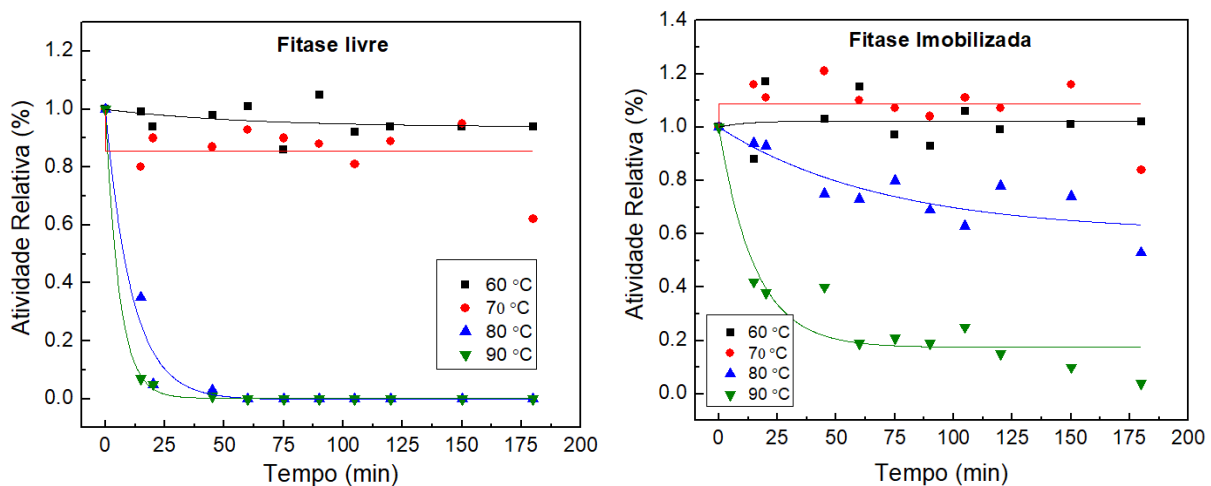


Figura 2. Resultados de termoestabilidades da fitase livre (a) e imobilizada (b).

A aplicação da fitase como aditivo para ração animal depende criticamente de sua estabilidade sob condições ácidas do estômago e à degradação por proteases digestivas. Em relação aos experimentos de simulação *in vitro* das condições gastrointestinais, foi observado que as formas livre e imobilizada da fitase mantiveram cerca de 77% de atividade após serem sujeitas às condições severas estomacais. Este experimento foi importante para confirmar que a enzima estaria ativa ao atingir o intestino do animal.

Em relação aos experimentos de degradação por proteases os dados obtidos mostraram que, para as duas razões de fitase: protease avaliadas, não houve redução na atividade de qualquer forma da enzima após 2 h de incubação. Sendo assim, os resultados indicaram que a imobilização da fitase não afetou sua resistência à proteólise e a enzima não foi degradada sob condições gastrointestinais simuladas, em ambas formas livre e imobilizada.

#### 4. Conclusões

A enzima fitase foi rapidamente e eficientemente imobilizada em nanopartículas de hidroxiapatita, resultando em um derivado com propriedades melhoradas para aplicação em ração animal. A fitase imobilizada apresentou maior perfil de atividade quanto ao pH e temperatura, e maior estabilidade a altas temperaturas do que a enzima livre. O derivado obtido demonstrou boa resistência a condições ácidas e resistência à proteólise. Os resultados sugerem que a fitase

imobilizada em nanopartículas de hidroxiapatita apresenta aplicações promissoras na indústria de ração animal.

#### Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Embrapa, ao CNPq, à CAPES e à FAPESP pelo apoio financeiro.

#### Referências

- BRADFORD, M. M. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. ISSN 0003-2697.
- CIAN, R. E. et al. Extruded fish feed with high residual phytase activity and low mineral leaching increased P-mesopotamicus mineral retention. **Animal Feed Science and Technology**, v. 240, p. 78-87, Jun 2018. ISSN 0377-8401.
- COUTINHO, T. C. et al. Nanoimmobilization of beta-glucosidase onto hydroxyapatite. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 119, p. 1042-1051, Nov 2018. ISSN 0141-8130.
- DERSJANT-LI, Y. et al. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 5, p. 878-896, Mar 2015. ISSN 0022-5142.
- HARATI, J. et al. Improvement in biochemical characteristics of glycosylated phytase through immobilization on nanofibers. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 12, p. 96-103, Oct 2017. ISSN 1878-8181.
- HARLAND, B. F.; HARLAND, J. Fermentative reduction of phytate in rye, white, and whole wheat breads. **Cereal Chemistry**, v. 57, n. 3, p. 226-229, 1980. ISSN 0009-0352.
- IVIC, J. et al. Assessment of the interacting mechanism between *Candida rugosa* lipases and hydroxyapatite and identification of the hydroxyapatite-binding sequence through proteomics and molecular modelling. **Rsc Advances**, v. 6, n. 41, p. 34818-34824, 2016 2016. ISSN 2046-2069.
- JAIN, J.; SAPNA; SINGH, B. Characteristics and biotechnological applications of bacterial phytases. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 2, p. 159-169, Feb 2016. ISSN 1359-5113.
- POLAINA, J.; MACCABE, A. P. **Industrial enzymes: Structure, function and application**. First. Dordrecht: Springer, 2007.
- ULLAH, A. H. J.; SETHUMADHAVAN, K.; MULLANEY, E. J. Monitoring of unfolding and refolding in fungal phytase (phyA) by dynamic light scattering. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 327, n. 4, p. 993-998, Feb 2005. ISSN 0006-291X.



**CARACTERIZAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS DE CELULOSE VEGETAL E CELULOSE MICROBIANA**T. M. Cruz<sup>1,\*</sup>, L. C. Matos<sup>1</sup>, R. C. S. Silva<sup>1</sup>, M. R. B. S. Silva<sup>1</sup>, L. M. Mendes<sup>1</sup>, G. H. D. Tonoli<sup>1</sup><sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras, Câmpus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais

\* Autor correspondente, e-mail: thiago.moreira.cruz@gmail.com

**Resumo:** A utilização crescente da celulose microbiana em diversas áreas é reflexo do potencial que esse material apresenta, assim, avaliar a capacidade da mesma na obtenção de filmes híbridos surge como uma possibilidade de alcançar características elásticas a esses filmes, conferindo-os potenciais usos distintos. Deste modo este trabalho teve por objetivo avaliar a interação da nanocelulose vegetal, bem como as propriedades mecânicas de tração e físicas de permeabilidade ao vapor de água. Para isso foram confeccionados filmes pelo método de casting, nas proporções de 100% celulose vegetal (*Eucalypto* e *Pinus*), 100% celulose microbiana e híbridos (50% celulose vegetal + 50% celulose microbiana). Os resultados evidenciaram a eficiência da produção de híbridos com características intermediárias e propriedades únicas de cada material, assim, observou-se uma resistência a tração de 21,98 e 21,02 Mpa para Eucalipto e Pinus, respectivamente, enquanto para a celulose microbiana essa resistência atingiu 1,96 Mpa. Para a avaliação física de taxa de permeabilidade ao vapor de água a nanocelulose microbiana apresentou valores superiores em relação a nanocelulose vegetal. Deste modo, observou-se potenciais para a formação de híbridos entre esses materiais.

**Palavras-chave:** nanocelulose, microbiana, híbridos, filmes.

**CHARACTERIZATION OF VEGETABLE CELLULOSE AND MICROBIAN CELLULOSE FILMS**

**Abstract:** The increasing use of microbial cellulose in several areas reflects the potential of this material, therefore, to evaluate the same display capacity of hybrid films as a possibility of obtaining elastic resources to these films, giving them to use different uses. This work aimed to evaluate the interaction of vegetable nanocellulose as well as the mechanical properties of exposure and use of water vapor permeability. For these films made by the casting method, in the proportions of 100% vegetable cellulose (eucalyptus and pine), 100% microbial cellulose and hybrids (50% vegetable cellulose + 50% microbial cellulose). The results show the efficiency of hybrid production with intermediate characteristics and unique characteristics of each material, such as resistance to resistance of 21.98 and 21.02 Mpa for eucalyptus and pine, respectively, while for microbial cellulose this resistance. reached 1.96 Mpa. For a physical evaluation of water vapor permeability rate in nanocellulose microbial, it presents higher values than vegetable nanocellulose. This mode allows the formation of hybrids between these materials.

**Keywords:** nanocellulose, microbial, hybrids, films.

**1. Introdução**

A celulose é um polímero orgânico vegetal de grande relevância industrial, principalmente por sua variada aplicação aos mais diversos setores, fato esse que explica a quantidade crescente de pesquisas relacionadas a sua produção e utilização. Com o avanço da nanotecnologia, inúmeros trabalhos têm sido publicados visando encontrar novas alternativas aos materiais oriundos de fontes não-renováveis provenientes do gás natural e petróleo, por exemplo, uma dessas áreas de pesquisa se aplicam a produção de embalagens com nanocelulose que apresenta características e propriedades satisfatórias e menos agressivas ao ambiente.

A nanocelulose vegetal vem se destacando por possuir propriedades e desempenho superiores em relação às das fibras convencionais de celulose, além disso, está ligada diretamente a sustentabilidade, já que pode ser obtida através resíduos agrícolas, madeiras e fibras vegetais (KLEMM, 2011; MILANEZ et al., 2013; SORRENTINO, 2017). A sua produção consiste em realizar tratamentos mecânicos, químicos e/ou biológicos aos quais permitam separar os filamentos nanocelulosicos que são a base da celulose presente nas paredes das fibras.

As nanopartículas de celulose vêm sendo estudada principalmente para ser utilizada como material de reforço em matrizes poliméricas, devido a sua capacidade em melhorar as propriedades mecânicas, ópticas, dielétricas, de barreira dentre outras, dessas matrizes (DUFRESNE, 2005; SILVA; D'ALMEIDA, 2009). Além disso, podem ser obtidas de diversos tipos de fontes além dos vegetais, como algas e bactérias (SILVA; D'ALMEIDA, 2009).

Uma outra alternativa seria a celulose microbiana (CM) que consiste em um polissacarídeo extracelular amplamente utilizado em novos campos devido às suas propriedades físicas únicas. O método convencional de produção de CB é feito por cultivo estático usando açúcares como glicose, frutose e sacarose e ainda não é aplicável à produção industrial em larga escala devido ao longo tempo de cultivo e à cara fonte de carbono.

A celulose microbiana apresenta mesma formulação que a celulose vegetal, mas suas fibras em dimensões nanométricas, denominadas de nanocelulose microbiana, dão à CB propriedades distintas. A nanocelulose microbiana é produzida na forma pura, desprovida de lignina, hemicelulose, pectina ou qualquer outro composto presente na polpa da planta e não contém componentes de origem animal. Destaca-se também sua alta resistência mecânica e à tração, a possibilidade de inserções de materiais para obtenção de compósitos, e mais recentemente, essas inserções têm sido feitas “in situ”, durante o cultivo da bactéria.

## 2. Materiais e Métodos

O estudo foi desenvolvido no laboratório de Nanotecnologia Florestal localizado no complexo de Biomateriais na UFLA. As fibras de *Eucalyptus* e *Pinus* foram transformadas em nanofibras através de processo mecânico pelo equipamento denominado SuperMassColloider grinder (Masuko Sangyo MKGA6-80, Kawaguchi, Japan) equipado com dois discos de pedras (MKGA6-80) a 1500 rpm (Guimarães et al. 2015; Tonoli et al. 2016; Scatolino et al. 2017), foram utilizadas 5 passagens para uniformização da polpa.

A nanocelulose microbiana foi obtida por meio de cultura em chá verde (33,3 g/L), açúcar cristal comercial (150 g/L) e inóculo de uma cultura anterior. O cultivo se deu em metodologia estática em um período total de 21 dias, após, foram removidas as biomembranas e homogeneizado em um misturador por cerca de 15 minutos.

Obtidas as nanoceluloses vegetais e microbianas, todas foram induzidas a 1% de teor de sólidos, após esse processo realizamos a formação de filmes de nanocelulose vegetal, microbiana e híbridos (Tabela 1) pelo método de casting com 60 ml ao todo de cada tratamento por filme. O período de secagem dos filmes perdurou por cerca de 10-20 dias em condições naturais.

Tabela 1. Tratamentos e suas respectivas condições de avaliação.

Tratamento	Condição
1	100% Nanocelulose Microbiana
2	100% Nanocelulose de <i>Eucalyptus</i>
3	100% Nanocelulose de <i>Pinus</i>
4	50% N. <i>Eucalyptus</i> + 50% N. Microbiana
5	50% N. <i>Pinus</i> + 50% N. Microbiana

Utilizando um texturômetro (Stable Microsystems, model TATX2i, Englaand) com célula de carga de 1 kN, foram medidas a resistência à tração (RT), o módulo de elasticidade (ME) e a capacidade de deformação (D) dos filmes compósitos. De acordo com a ASTM D882-02 (ASTM,

2002), amostras com 10 mm de largura e 100 mm de comprimento foram submetidas ao teste de tração utilizando-se uma velocidade de 2 mm/s.

A Taxa de Permeabilidade ao Vapor de Água foi determinada utilizando-se o método gravimétrico, de acordo com a ASTM E96-10 (ASTM, 2010), utilizando-se amostras circulares com 11 mm de diâmetro. As amostras foram fixadas em cápsulas contendo sílica gel, de modo a conseguir uma umidade interna na cápsula, em contato com a face inferior da amostra, considerada como zero (0%). As cápsulas foram colocadas em um dessecador hermético a uma temperatura de  $25 \pm 1$  °C, no qual um volume de solução saturada de cloreto de sódio garantiu uma umidade de 75%. Medidas de ganho de massa (Analytical balance, resolution 0.001g) das cápsulas foram feitas a cada 24 h, por 7 dias.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software R 3.3.2, com os pacotes base (R CORE TEAM, 2016).

### 3. Resultados e Discussão

A TPVA foi calculada para os filmes e os resultados são apresentados na Figura 1.

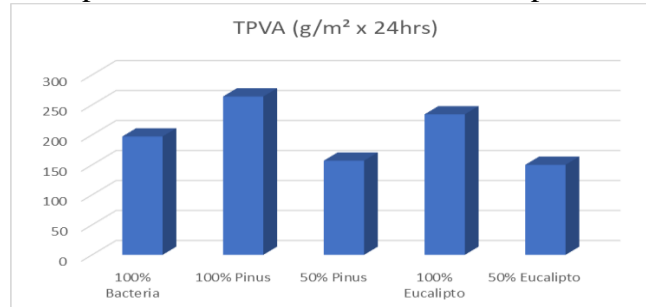


Figura 1. Resultados de TPVA.

Observa-se que a nanocelulose vegetal apresenta maior taxa de permeabilidade em relação aos híbridos e também a bactéria. A formação de híbridos entre celulose vegetal e microbiana diminuiu efetivamente a taxa de permeabilidade destes filmes, tanto para Eucalipto como Pinus, o que decorre das características as quais a nanocelulose microbiana apresenta. A permeabilidade ao vapor de água em filmes está relacionada à difusividade e à solubilidade da água no interior da matriz polimérica.

Esses resultados evidenciam melhoria nas características de permeabilidade evidenciando assim que com o acréscimo de nanocelulose microbiana teremos uma menor taxa de permeabilidade do meu filme, tornando-o menos susceptível a absorção de água.

Os resultados de resistência a tração são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Resistência mecânica média por tratamento.

Tratamento	Resistência média
Eucalipto 100%	21,98 a
Pinus 100%	21,02 a
Eucalipto 50%	11,12 b
Pinus 50%	8,31 b
Bactéria 100%	1,96 c

# Letras diferentes representam valores significativamente diferentes a  $p \geq 0.05$ .

Observa-se conforme a Tabela 2 que os filmes obtidos de nanocelulose vegetal possuem maior resistência à tração, o que se verifica pela estatística, onde existiu a criação de três grupos distintos, o primeiro e maior composto pelos filmes unicamente composto de celulose vegetal, o segundo grupo pelos híbridos de nanocelulose vegetal e microbiana e por fim e com uma menor resistência mecânica o filme de celulose microbiana.

O fato de agregar na composição dos filmes de nanocelulose vegetal a nanocelulose microbiana faz com que os usos se ampliem devido as características intermediárias de ambos os materiais.

#### 4. Conclusões

Os filmes de nanocelulose vegetal apresentaram maior resistência à tração e também maior taxa de permeabilidade ao vapor de água.

A formação de híbridos garantiu aos filmes características intermediárias em relação as suas propriedades.

A adição de nanocelulose microbiana aos filmes de vegetal melhoraram as características de elasticidade dos mesmos.

A celulose microbiana possui um potencial imenso em vários setores, assim, espera-se realizar estudos complementares desse material e sua interação com a celulose vegetal a fim de adequar um possível uso ao qual seja viável economicamente e funcionalmente a sua utilização.

#### Agradecimentos

Agradecemos a instituição financiadora: Capes e Fapemig, bem como à Universidade Federal de Lavras e seu corpo docente, em especial, ao programa de Pós-graduação de Engenharia de Biomateriais e seus discentes que contribuíram na realização deste trabalho.

#### Referências

- ASTM. (2002). Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, Standard D882-02. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials, 10 p.
- ASTM. (2016). Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials, Standard E96 / E96M - 16. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials, 14 p.
- Campano C, Balea A, Blanco A, Negro C (2016) Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review. *Cellulose* 23(1):57–91.
- Dufresne, A. Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials. Walter de Gruyter, 2012
- Guimarães, M., Botaro, V.R., Novack, K.M., Teixeira, F.G., Tonoli, G.H.D. (2015b) Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. *Ind. Crops Prod.* 70:72–83.
- Jahan F, Kumar V, Rawat G, Saxena RK (2012) Production of microbial cellulose by a bacterium isolated from fruit. *Appl Biochem Biotechnol* 167(5):1157–1171
- Karahan AG, Akoğlu A, Çakir I, Kart A, LütfüÇakmakçi M, Uygun A, Göktepe F (2011) Some properties of bacterial cellulose produced by new native strain *Gluconacetobacter* sp. A06O2 obtained from turkish vinegar. *J Appl Polym Sci* 121(3):1823–1831
- KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; BOHN, A. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie*, v. 44, p. 3358-3393, 2005.
- MILANEZ, D. H.; MORATO do AMARAL, R.; LOPES de FARIA, L. I.; GREGOLIN, J. A. R. Assessing nanocellulose developments using science and technology indicators. *Materials Research*, v. 16, n. 3, p. 635-641, 2013.
- Scatolino, M.V., Bufalino, L., Mendes, L.M., Guimarães Júnior, M., Tonoli, G.H.D. (2017b) Impact of nanofibrillation degree of eucalyptus and Amazonian hardwood sawdust on physical properties of cellulose nanofibril films. *Wood Sci. Technol.* p. 1095–1115.
- SORRENTINO, W. Alternativas de uma fibra vegetal. 2017. Disponível em: <<http://waltersorrentino.com.br/2017/03/27/alternativas-de-uma-fibra-vegetal-por-revis-ta-fapesp/>>. Acesso em: 10 junho 2019.
- SILVA, D. J.; D'ALMEIDA, M. L. O. Nanocristais de celulose. *O Papel*, v. 70, n. 7, p. 34-52, 2009.
- Tonoli, G.H.D., Holtman, K.M., Glenn, G., Fonseca, A.S., Wood, D., Williams, T., Sa, V.A., Torres, L., Klamczynski, A., Orts, W.J. (2016) Properties of cellulose micro/nanofibers obtained from eucalyptus pulp fiber treated with anaerobic digestate and high shear mixing. *Cellulose* 23:1239–1256.

## SÍNTESE E PROPRIEDADES ÓTICAS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO PRODUZIDAS POR CO-PRECIPITAÇÃO E HIDROTHERMAL

A. P. S. Dantas<sup>1,\*</sup>, R. M. Vanderlei<sup>1</sup>, J. M. Marconcini<sup>2</sup>, E. C. Paris<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Av. Washington Luís, s/n, 135656-905, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, R. 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: anapaulasilvadantas@gmail.com

**Resumo:** Nanopartículas de ZnO foram sintetizadas pelas metodologias de co-precipitação e hidrotérmica e avaliadas por difratometria de Raios-X (DRX) e análises óticas. Os resultados de DRX mostraram que as rotas foram eficazes para a formação dessas nanopartículas, bem como sugerem que as nanopartículas hidrotérmicas apresentaram maior cristalinidade. Em relação às propriedades óticas, ambas as nanopartículas apresentaram absorções nas faixas de radiação ultravioleta e infravermelho, demonstrando grande potencial como aditivos bloqueadores desses tipos de radiações.

**Palavras-chave:** co-precipitação, hidrotérmica, óxido de zinco, propriedades óticas.

### ***SYNTHESIS AND OPTICAL PROPERTIES OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES PRODUCED BY CO-PRECIPITATION AND HYDROTHERMAL***

**Abstract:** ZnO nanoparticles were synthesized by co-precipitation and hydrothermal methods and evaluated by X-ray diffraction (XRD) and optical analysis. The XRD results showed that the routes were effective in the formation of these nanoparticles, as well as suggesting that the hydrothermalized nanoparticles showed higher crystallinity. Both nanoparticles absorbed in the ultraviolet and infrared radiation ranges and showed great potential as additives that block these types of radiation.

**Keywords:** coprecipitation, hydrothermal, zinc oxide, optical properties.

## **1. Introdução**

Nanotecnologia é o ramo da ciência que estuda a matéria em sua escala nanométrica, isto é, a matéria em uma escala na faixa de  $10^{-9}$  metro. Uma partícula com tamanho inferior a 100 nm é considerada uma nanopartícula, sendo que suas propriedades físicas e químicas podem variar em relação ao mesmo material em sua escala macroscópica devido a sua elevada área superficial específica. Por este motivo, a produção de nanopartículas tem gerado grande interesse científico e tecnológico (HORIKOSHI; SERPONE, 2013).

As nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) apresentam absorção na faixa da radiação ultravioleta e elevada fotoestabilidade, sendo utilizados na produção de protetores solares e cosméticos (JAVED et al., 2016).

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo a obtenção de nanopartículas de óxido de zinco por duas diferentes rotas de síntese: co-precipitação e hidrotérmica, para posterior avaliação das propriedades óticas de absorção no espectro da radiação ultravioleta, visível e infravermelho.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Materiais**

Para realização das sínteses, foi utilizado como precursor o nitrato de zinco hexahidratado ( $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ); como agente mineralizante, foi utilizado o hidróxido de sódio (NaOH). Ambos os materiais foram oriundos da Synth.

## 2.2. Metodologia

### 2.2.1. Síntese das nanopartículas

A síntese das nanopartículas de óxido de zinco foi realizada por duas rotas: co-precipitação e hidrotermal, baseando-se em trabalhos anteriores realizados pelo grupo de pesquisa (PEDREIRA; CHILITI; PARIS, 2017). Ambas as rotas se iniciaram com a mistura do nitrato de zinco hexahidratado e hidróxido de sódio em água deionizada, sendo essa solução mantida sob agitação por 1 hora, a temperatura ambiente. Após a agitação, para a rota de co-precipitação a solução foi centrifugada para obtenção do precipitado (ZnO\_C), que posteriormente foi lavado para neutralização do pH. Logo em seguida, o produto foi secado em estufa por 24 horas, a 50°C.

Para a rota de hidrotermal, após o período de agitação da mistura, a solução foi levada ao equipamento hidrotermal a temperatura de 150°C por 2 horas, com o objetivo de promover um tratamento térmico nas partículas de ZnO. Após essa etapa, assim como a rota de co-precipitação, o material foi lavado, neutralizado e secado em estufa para obtenção do óxido de zinco hidrotermalizado (ZnO\_H). Ambas as rotas de síntese apresentaram rendimento entre 90% e 95%.

### 2.2.2. Caracterização das nanopartículas

Objetivando-se identificar as fases presentes, bem como observar a presença de possíveis impurezas geradas pela síntese, as nanopartículas foram caracterizadas por difratometria de raios-X (DRX). Foi utilizado um difratômetro da marca Shimadzu modelo XRD-6000 operando com radiação Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$ ) monocromatizada com Ni, voltagem de 30 kV e 30 mA. As análises foram feitas no intervalo de ângulos de Bragg ( $2\theta$ ) de 5° a 75°, em uma velocidade de varredura de 2°/min.

Para análise da absorção na região do ultravioleta-visível, foram feitas medições por espectroscopia de reflectância difusa, no equipamento da marca Shimadzu, entre os comprimentos de onda de 220 a 700 nm. Com o auxílio do software UV-Probe, foi aplicada a função de Kubelka-Munk (Equação 1) para obtenção do espectro de absorbância em função do comprimento de onda (KUBELKA, 1948). Com o uso da função Kubelka-Munk, juntamente com a equação de Wood-Tauc (Equação 2), foi possível calcular o valor do *band gap* dos materiais (TAUC, 1970).

$$F(R) = \frac{(1 - R)^2}{2R} = \frac{K_0}{S} \quad (1)$$

Em que:

F(R) = Função de Kubelka-Munk;

R = Reflectância;

S = Coeficiente de dispersão;

K<sub>0</sub> = Coeficiente de absorção.

$$\alpha h\nu = C_1(h\nu - E_g)^{1/2} \quad (2)$$

Em que:

$\alpha$  = Coeficiente de absorção;

h = Constante de Planck ( $h=6,62607 \times 10^{34} \text{ m}^2 \text{ kg/s}$ )

$\nu$  = Frequência;

C<sub>1</sub> = Constante de proporcionalidade;

E<sub>g</sub> = Energia de band gap.

Também foram realizadas análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para avaliação da absorção das nanopartículas na região do infravermelho. Foram preparadas pastilhas de KBr na proporção de 100 mg de KBr e 1 mg de cada nanopartícula, sendo

as mesmas prensadas. O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro da marca Bruker, modelo Vertex 50 e os espectros foram obtidos a partir de 32 varreduras, com uma resolução de  $2\text{ cm}^{-1}$ , entre  $400$  e  $4000\text{ cm}^{-1}$ .

### 3. Resultados e Discussão

A partir da análise por DRX foi possível avaliar a estrutura cristalina e composição das nanopartículas de óxido de zinco. Os difratogramas apresentados na Figura 1 indicam a formação de nanopartículas cristalinas em ambas as nanopartículas de ZnO, sendo observados picos de grande intensidade em  $31^\circ$ ,  $34^\circ$  e  $36^\circ$ , referentes aos planos cristalinos (100), (002) e (101) da estrutura hexagonal do tipo wurtzita (cartão JCPDS nº 01-080-0074). Pode ser observado ainda que os picos referentes as nanopartículas hidrotermalizadas se apresentaram mais intensos e bem definidos, o que sugere que o tratamento hidrotermal pode estar relacionado com o aumento da cristalinidade das partículas de ZnO.

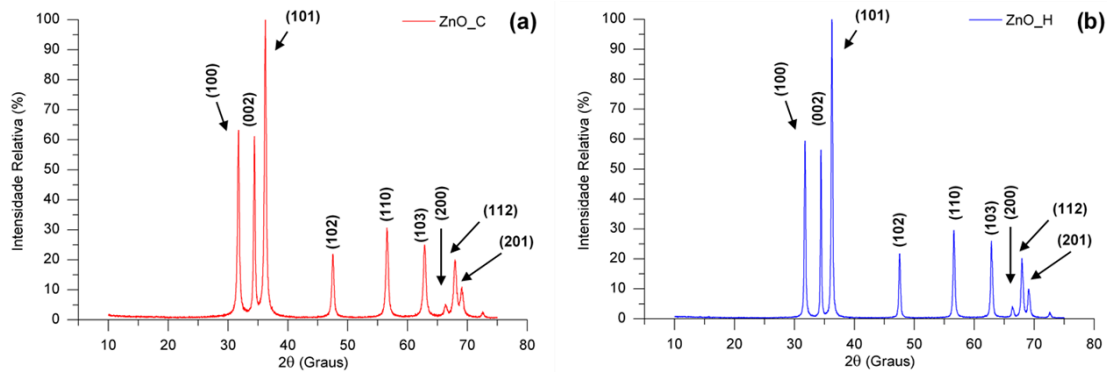


Figura 8. Difratogramas das nanopartículas de (a) ZnO\_C e (b) ZnO\_H.

Os espectros de absorvância das nanopartículas obtidos a partir da função Kubelka-Munk são apresentados na Figura 2(a). A partir dos espectros, foi possível observar que ambas as nanopartículas apresentaram absorção na região do ultravioleta (UVA, UVB e UVC) abaixo de  $380\text{ nm}$ . Dessa forma, é possível confirmar que as rotas de síntese escolhidas, bem como seus parâmetros, produziram materiais que apresentam potencial para aplicações como absorvedores de radiação ultravioleta.

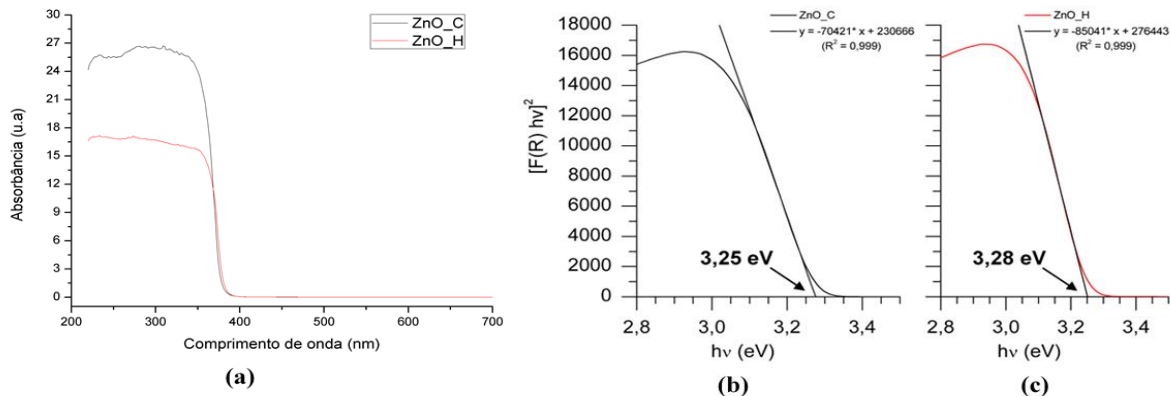


Figura 2. (a) Espectro de absorvância para ambas as nanopartículas; (b) cálculo do band gap para o ZnO\_C e (c) cálculo do band gap para ZnO\_H.

A representação gráfica da equação modificada de Wood-Tauc está apresentada nas Figuras 2(b) e 2(c). As energias de band gap estimadas para as nanopartículas de ZnO sintetizadas pela rota de co-precipitação foi de  $3,25\text{ eV}$  e para a rota hidrotermal foi de  $3,28\text{ eV}$ . Estes valores estão coerentes com o valor teórico de  $3,37\text{ eV}$  (KATIYAR; KUMAR; SRIVASTAVA, 2018; KIOMARSIPOUR; SHOJA RAZAVI, 2012).

Os espectros de FTIR para as nanopartículas estão apresentados na Figura 4. Foram

observadas bandas em 563 e 436  $\text{cm}^{-1}$  para o ZnO\_C e 573 e 430  $\text{cm}^{-1}$  para o ZnO\_H, referentes as vibrações de estiramento da ligação Zn-O. A mudança na intensidade entre as nanopartículas de ZnO apresenta mais um indício de que o tratamento térmico aumentou a cristalinidade das nanopartículas hidrotermalizadas. Além disso, o aumento na intensidade da vibração de estiramento em torno de 573  $\text{cm}^{-1}$  do ZnO\_H pode estar atrelado à fase cristalina, enquanto a banda em torno de 430  $\text{cm}^{-1}$  pode estar associada à fase amorfa.

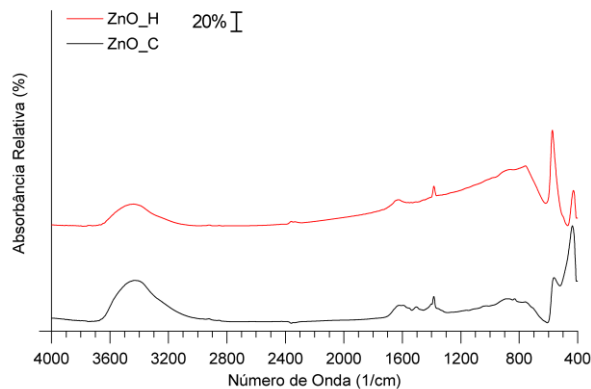


Figura 3. Espectro de FTIR para as nanopartículas de ZnO.

#### 4. Conclusões

A partir do que foi exposto, é possível concluir que as rotas de síntese escolhidas se mostraram eficazes na obtenção de nanopartículas de ZnO, sendo que as nanopartículas que passaram pelo tratamento hidrotermal apresentaram indícios de uma maior cristalinidade. Analisando os resultados das propriedades óticas, observou-se que as nanopartículas exibiram absorção tanto na região do ultravioleta quanto na região do infravermelho, demonstrando o potencial de nanopartículas de ZnO em aplicações que exijam tais propriedades.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa Instrumentação pela disponibilidade da infraestrutura e às agências de fomento CNPq e CAPES pelo apoio de infraestrutura e financeiro.

#### Referências

- HORIKOSHI, S.; SERPONE, N. Introduction to Nanoparticles. In: HORIKOSHI, S.; SERPONE, N. (Eds.). . **Microwaves in Nanoparticle Synthesis**. [s.l.] Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013. p. 1–24.
- JAVED, R. et al. Effect of capping agents: Structural, optical and biological properties of ZnO nanoparticles. **Applied Surface Science**, v. 386, n. Supplement C, p. 319–326, 15 nov. 2016.
- KATIYAR, A.; KUMAR, N.; SRIVASTAVA, A. Optical properties of ZnO nanoparticles synthesized by co-precipitation method using LiOH. **Materials Today: Proceedings**, 6th National Conference on Nanomaterials and Nanotechnology, 11 to 13 February 2017. v. 5, n. 3, Part 1, p. 9144–9147, 1 jan. 2018.
- KIOMARSIPOUR, N.; SHOJA RAZAVI, R. Characterization and optical property of ZnO nano-, submicro- and microrods synthesized by hydrothermal method on a large-scale. **Superlattices and Microstructures**, v. 52, n. 4, p. 704–710, 1 out. 2012.
- KUBELKA, P. New Contributions to the Optics of Intensely Light-Scattering Materials. Part I. **JOSA**, v. 38, n. 5, p. 448–457, 1 maio 1948.
- PEDREIRA, B. A. B.; CHILITI, T.; PARIS, E. C. **Síntese de nanoestruturas de ZnO pelos métodos de precipitação e hidrotermal**. . In: IX WORKSHOP DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO. São Carlos (SP): 2017
- TAUC, J. Absorption edge and internal electric fields in amorphous semiconductors. **Materials Research Bulletin**, v. 5, n. 8, p. 721–729, 1 ago. 1970.



**DETECÇÃO DE ANTIBIÓTICOS UTILIZANDO LÍNGUA ELETRÔNICA À BASE DE ÓXIDO DE GRAFENO E DISSULFETO DE MOLIBDÊNIO**

M. H. M. Facure<sup>1,2,\*</sup>, R. Schneider<sup>1,2</sup>, R. S. Andre<sup>1</sup>, D. M. dos Santos<sup>1</sup>, D. S. Corrêa<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP*

<sup>2</sup> *Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ), Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Rod. Washington Luis, km 235, 13565-905, São Carlos, SP*

\* *Autor correspondente, e-mail: murilohmfacure@gmail.com*

**Resumo:** A grande utilização de antibióticos e seu inadequado descarte têm levado à acumulação destes medicamentos no meio ambiente, bem como ao desenvolvimento de bactérias super-resistentes à antibióticos. Para minimizar este problema, é de fundamental importância a utilização de técnicas capazes de fazer a detecção e determinação de antibióticos em amostras de águas. Neste trabalho, a detecção de dois antibióticos em meios aquosos foi realizada por um sensor do tipo língua eletrônica (LE). A LE foi composta de cinco unidades sensoriais à base de óxido de grafeno (OG) e dissulfeto de molibdênio (MoS<sub>2</sub>). As soluções dos nanomateriais foram preparadas e utilizadas para realizar a modificação dos eletrodos interdigitados de ouro através da técnica de drop-casting. Medidas de espectroscopia de impedância foram realizadas utilizando as soluções de antibióticos com diferentes concentrações, coletando-se valores de resistência e capacitância. O tratamento dos dados foi realizado pelo método de análise de componentes principais e a LE foi capaz de discriminar os diferentes tipos de antibióticos, bem como diferenciar as concentrações de cada solução analisada. Os resultados obtidos mostram que o sistema de língua eletrônica foi capaz de identificar traços de antibióticos investigados em soluções aquosas, se apresentando como alternativa em análises químicas ambientais.

**Palavras-chave:** antibióticos, língua eletrônica, dissulfeto de molibdênio, grafeno.

***DETECTION OF ANTIBIOTICS USING ELECTRONIC TONGUE BASED ON GRAPHENE OXIDE AND MOLYBDENUM DISULFIDE***

**Abstract:** The widespread use of antibiotics and their improper disposal have caused the accumulation of this type of drug medication in the environment, as well as the development of antibiotic-resistant bacteria. The use of techniques capable of detecting and determining antibiotics in water samples is of fundamental importance to avoid or minimize such a problem. In this work, an electronic tongue (e-tongue) was employed for the detection of two antibiotics in aqueous media. The e-tongue was composed of sensing units based on graphene oxide and molybdenum disulfide. Nanomaterials solutions were prepared and used to modify the gold interdigitated electrodes by the drop-casting technique. Impedance spectroscopy measurements were performed using antibiotic solutions with different concentrations, collecting resistance and capacitance data. The data treatment was performed by the principal component analysis and the e-tongue was able to discriminate the different types of antibiotics, as well as to differentiate the concentrations of each solution analyzed. The results show that the system is able to identify traces of antibiotics in aqueous solutions, representing an alternative in chemical environmental analyses.

**Keywords:** antibiotics, electronic tongue, molybdenum disulfide, graphene.

## 1. Introdução

A produção e a utilização de antibióticos pelos humanos vêm crescendo a cada ano. Tais medicamentos têm papel fundamental no controle da saúde pública, tratando infecções e até mesmo evitando a morte de pacientes infectados por bactérias. Porém, estudos recentes têm identificado quantidade excessiva de antibióticos na natureza, acima de níveis considerados seguros. Após serem utilizados pelos seres humanos, esses medicamentos, que ainda possuem atividade, chegam ao meio ambiente onde acabam se acumulando. Como consequência, é possível ocorrer o desenvolvimento de cepas bacterianas com maior resistência a antibióticos. As bactérias se adaptam e evoluem, conseguindo resistir aos efeitos de alguns antibióticos que antes se mostravam efetivos (LI et al., 2016; SEIFRTOVÁ et al., 2009). Desta forma, a ausência de antibióticos capazes de tratar infecções causadas por bactérias resistentes poderá representar uma das maiores causas de morte em todo o mundo. Neste contexto, o desenvolvimento de técnicas viáveis e robustas para a detecção de resíduos de antibióticos é altamente desejado (QIAO et al., 2018).

Materiais bidimensionais (2D) têm sido cada vez mais estudados desde a obtenção do grafeno, ensejando sua exploração em diversas áreas (CHENG et al., 2017; NOVOSELOV et al., 2004). Dentro dessa classe, materiais à base de grafeno e do dissulfeto de molibdênio têm sido combinados, resultando em materiais híbridos que apresentam melhores propriedades devido à efeitos sinérgicos (SUN et al., 2019). Pelo fato de apresentarem uma alta razão área superficial/volume e propriedades de condutividade elétrica, além de sítios ativos e características morfológicas para reconhecimento de analitos específicos, tais compósitos têm resultado em excelentes performances quando utilizados em plataformas sensoriais (KUMAR et al., 2015).

A língua eletrônica (LE) é um instrumento analítico usualmente composto por unidades sensoriais não específicas, de baixa seletividade, mas que utilizam o conceito de seletividade global na identificação e classificação de líquidos de composição complexa. A LE pode ser utilizada para o reconhecimento e detecção de diferentes espécies em solução através de métodos quimiométricos adequados (VLASOV et al., 2005). Neste trabalho, uma LE foi desenvolvida para análise de antibióticos em soluções. Óxido de grafeno (OG) e dissulfeto de molibdênio ( $\text{MoS}_2$ ) foram utilizados na obtenção das unidades sensoriais da LE para detectar e diferenciar antibióticos em soluções de concentrações nanomolares.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Língua Eletrônica

O OG foi sintetizado através do método de Hummers modificado (CHEN et al., 2013). O  $\text{MoS}_2$  foi obtido da Sigma-Aldrich. Soluções aquosas de partida ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) de OG e  $\text{MoS}_2$  foram obtidas esfoliando os materiais em pó em água ultrapura. Eletrodos interdigitados de ouro fabricados por fotolitografia foram utilizados para a obtenção das unidades sensoriais. Cinco soluções foram preparadas para modificação dos eletrodos através da técnica de drop-casting:  $\text{MoS}_2$  ( $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ ), OG ( $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ ),  $\text{MoS}_2$ -OG (1:3) ( $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ : $0,75 \text{ mg mL}^{-1}$ ),  $\text{MoS}_2$ -OG (1:1) ( $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$ : $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e  $\text{MoS}_2$ -OG (3:1) ( $0,75 \text{ mg mL}^{-1}$ : $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ ). Todas as soluções foram preparadas diluindo-se as soluções de partidas até as concentrações desejadas. Após o preparo, as soluções foram colocadas em ultrassom de banho por 15 minutos. Em seguida, foi realizada a modificação dos eletrodos.

Dois antibióticos foram analisados: cloxacilina benzatina e eritromicina. Foram preparadas soluções de  $0,5 \text{ nmol L}^{-1}$ ,  $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$  e  $5,0 \text{ nmol L}^{-1}$  de cada antibiótico em tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,5). As medidas foram realizadas em triplicadas e coletadas após o tempo de estabilização das unidades sensoriais com as soluções analisadas.

Medidas de espectroscopia de impedância foram realizadas utilizando um analisador de impedância (Solartron 1260 A). A frequência foi varrida de 1 Hz a 1 MHz aplicando-se um potencial constante de 50 mV. Dados de capacitância e resistência foram coletados e o tratamento dos dados foi realizado pela análise de componentes principais.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Caracterização físico-química

A obtenção das soluções utilizadas na modificação dos eletrodos foi confirmada pela espectroscopia na região de UV-vis. Na Fig. 1 são apresentados os espectros de cada solução.

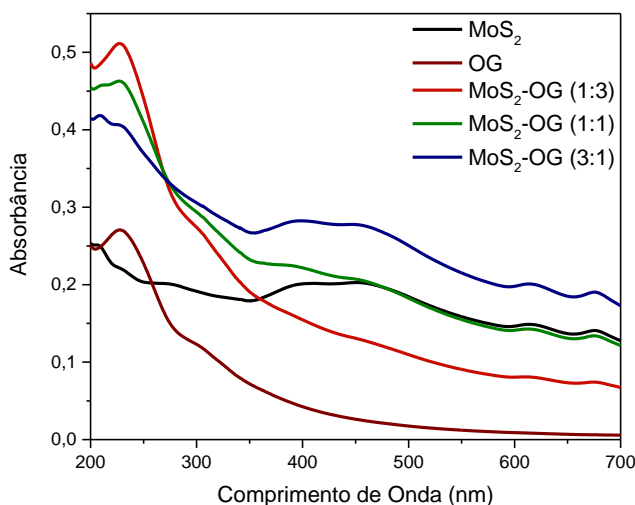


Figura 1. Espectroscopia de UV-vis das soluções de MoS<sub>2</sub>, OG e dos nanocompósitos de MoS<sub>2</sub>-OG.

No espectro da solução de MoS<sub>2</sub>, é possível observar dois picos em 618 nm e 676 nm. A absorção de luz na região de radiação visível indica o aparecimento de um gap direto de energia e, conseqüentemente, do sucesso na esfoliação do material em água (LIU et al., 2013; WU et al., 2017). O espectro da solução de OG apresenta uma banda por volta de 300 nm e um pico em 230 nm referentes respectivamente às transições  $n-\pi^*$  das ligações C = O e  $\pi-\pi^*$  das ligações C = C dos anéis aromáticos características do óxido de grafeno (TRUSOVAS et al., 2016). Os espectros das soluções dos compósitos apresentam os picos característicos de ambos os materiais. É possível perceber ainda que a intensidade da absorbância referente a cada um dos materiais (OG e MoS<sub>2</sub>) é proporcional à quantidade presente desse material na solução do nanocompósito.

#### 3.2. Medidas na Língua Eletrônica

Os antibióticos cloxacilina benzatina e eritromicina foram analisados na LE. Foram feitas soluções de 0,5 nmol L<sup>-1</sup>, 1,0 nmol L<sup>-1</sup> e 5,0 nmol L<sup>-1</sup> de cada antibiótico. A Fig. 2 mostra o gráfico obtido pela análise de componentes principais utilizando os dados de capacitância medidos na frequência de 1 kHz.

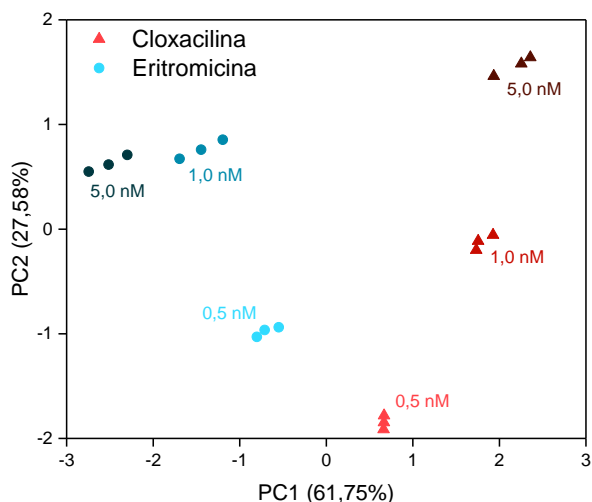


Figura 2. Gráfico da análise das soluções de antibióticos para as respostas de capacitância coletadas em 1 kHz.

A partir dos tratamentos dos dados, é possível perceber que a LE proposta foi capaz de diferenciar os tipos de antibióticos, além de discriminar soluções do mesmo antibiótico com concentrações distintas, na faixa de nanomolar. O gráfico reúne 89,33% (PC1+PC2) da variância total coletada pela LE, e a proximidade dos pontos referentes à mesma solução indica uma alta reprodutibilidade das medidas.

A performance da LE proposta pode ser atribuída a escolha dos materiais empregados na composição das unidades sensoriais. Os materiais 2D escolhidos possuem afinidade com a estrutura dos antibióticos analisados, além de possuírem sítios ativos (funcionalidades de oxigênio em sua superfície) que auxiliam na interação dos materiais com o analito. Os compósitos também apresentaram propriedades elétricas adequadas para medidas capacitivas.

#### 4. Conclusões

Óxido de grafeno e dissulfeto de molibdênio foram utilizados na composição das unidades sensoriais de uma língua eletrônica. A LE foi utilizada na análise de soluções aquosas de dois antibióticos, sendo capaz de diferenciá-los e distinguir concentrações nanomolares dos mesmos antibióticos. A LE proposta representa uma alternativa na análise de fármacos em soluções aquosas.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (processos: 2017/10582-8, 2018/18468-2, 2016/23793-4 e 2017/20973-4), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao MCTI-SisNano e à Embrapa.

#### Referências

- CHEN, J. et al. An improved Hummers method for eco-friendly synthesis of graphene oxide. **Carbon**, v. 64, n. 1, p. 225–229, 2013.
- CHENG, M. et al. A facile electrochemical sensor based on well-dispersed graphene-molybdenum disulfide modified electrode for highly sensitive detection of dopamine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 786, p. 1–7, 2017.
- KUMAR, N. A. et al. Graphene and molybdenum disulfide hybrids: synthesis and applications. **Materials Today**, v. 18, n. 5, p. 286–298, 2015.
- LI, J. et al. Occurrence and removal of antibiotics and the corresponding resistance genes in wastewater treatment plants: effluents' influence to downstream water environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 6826–6835, 2016.
- LIU, Y. D. et al. Preparation, characterization and photoelectrochemical property of ultrathin MoS<sub>2</sub> nanosheets via hydrothermal intercalation and exfoliation route. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 571, p. 37–42, 2013.
- NOVOSELOV, K. S. et al. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. **Science**, v. 306, p. 666–669, 2004.
- QIAO, L. et al. Carbon-Dots-Based Lab-On-a-Nanoparticle Approach for the Detection and Differentiation of Antibiotics. **Chemistry: A European Journal**, v. 24, p. 4703–4709, 2018.
- SEIFRTOVÁ, M. et al. An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 649, p. 158–179, 2009.
- SUN, T. et al. Electrochemical sensor sensitive detection of chloramphenicol based on ionic-liquid-assisted synthesis of de-layered molybdenum disulfide / graphene oxide nanocomposites. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 49, n. 3, p. 261–270, 2019.
- TRUSOVAS, R. et al. Recent Advances in Laser Utilization in the Chemical Modification of Graphene Oxide and Its Applications. **Advanced Optical Materials**, v. 4, n. 1, p. 37–65, 2016.
- VLASOV, Y. et al. Nonspecific sensor arrays (“electronic tongue”) for chemical analysis of liquids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 77, n. 11, p. 1965–1983, 2005.
- WU, S. et al. High visible light sensitive MoS<sub>2</sub> ultrathin nanosheets for photoelectrochemical biosensing. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 92, p. 646–653, 2017.

**FOSFATOS NANOMÉTRICOS DISPERSOS EM MATRIZ DE UREIA E AMIDO NA FERTILIZAÇÃO DO *PANICUM MAXIMUM* CV. BRS ZURI**

H. P. Gestal<sup>1,\*</sup>, A. S. Giroto<sup>2</sup>, G. G. F. Guimarães<sup>3</sup>, A. L. M. Maricato<sup>1</sup>, C. R. Oliveira<sup>2</sup>, D. M. Fernandes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, Avenida Universitária, 3780, 18.610-034, Botucatu, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13.650-370, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, Rodovia Antônio Heil, 6800, 88.318-112, Itajaí, Santa Catarina

\* Autor correspondente, e-mail: heitor\_reis@hotmail.com

**Resumo:** O fósforo (P) é um importante macronutriente responsável pelo crescimento e produção de culturas agrícolas. Cerca de 80% de P aplicado como fertilizante é perdido para o ambiente ou ligado quimicamente no solo. Os fertilizantes nanoparticulados apresentam um potencial para melhoraria na eficiência de P, com base na hipótese de que as partículas nanométricas apresentam maior mobilidade e disponibilidade no solo. Um desafio a ser superado é desenvolver estratégias para manter as partículas de fosfatos em escala nanométricas e evitar sua reaglomeração. Estudos recentes têm demonstrado que a ureia fertilizante apresenta potencial como matriz para dispersão de fosfatos, evitando a reaglomeração das partículas, além de fornecer nitrogênio (N) que é o fertilizante mais requerido pelas culturas. Portanto, a proposta central deste trabalho foi processar e caracterizar um nanocompósito baseado na dispersão de superfosfato triplo (ST) em matriz de ureia (Nano-ST) e avaliar o suprimento de N e P pela planta. Para isso foi realizado um experimento em casa de vegetação e a cultivar de Panicum BRS Zuri foi conduzida em PGCs. O tratamento com Nano-ST propiciou maior teor foliar de N para o *Panicum maximum* cv. BRS Zuri em relação ao tratamento com ST comercial + ureia comercial.

**Palavras-chave:** nanotecnologia, superfosfato triplo, fertilizantes, fósforo, nitrogênio.

**NANOMETRIC PHOSPHATES SCATTERED IN UREA AND STARCH MATRIX FOR *PANICUM MAXIMUM* CV. BRS ZURI FERTILIZATION**

**Abstract:** Phosphorus (P) is an important macronutrient responsible for crop growth and production. About 80% of P applied as fertilizer is lost to the environment or chemically bound in the soil. Nanoparticle fertilizers have a potential to improve P efficiency based on the hypothesis that nanometric particles have greater mobility and availability in the soil. A challenge to be overcome is to develop strategies to keep phosphate particles nanometer-sized and prevent them from re-agglomerating. Recent studies have shown that urea fertilizer has potential as a matrix for phosphate dispersion, avoiding particle agglomeration, as well as providing nitrogen (N) which is the most required fertilizer by crops. Therefore, the main purpose of this work was to process and characterize a nanocomposite based on triple superphosphate (ST) dispersion in urea matrix (Nano-ST) and to evaluate the plant N and P supply. An experiment was carried out in a greenhouse and the Panicum BRS Zuri cultivar was conducted in PGCs. Nano-ST treatment provided higher leaf N content for *Panicum maximum* cv. BRS Zuri regarding treatment with commercial ST + commercial urea.

**Keywords:** nanotechnology, triple superphosphate, fertilizers, phosphorus, nitrogen.

**1. Introdução**

A nanotecnologia tem sido proposta como uma tecnologia emergente com potencial para

melhorar as formulações de fertilizantes (GOGOS et al., 2012). Os nanomateriais podem ser definidos como materiais que têm uma dimensão inferior a 100 nm (POWERS et al., 2006). O tamanho reduzido e, portanto, a alta relação entre superfície e volume das nanopartículas conferem comportamento diferente em relação a partículas de tamanho maior do mesmo material. Por exemplo, com base na termodinâmica, espera-se que as nanopartículas se dissolvam mais rapidamente e sejam mais móveis em meios porosos desse mesmo material em maior tamanho (BORM et al., 2006).

Assim, devido às propriedades distintas das nanopartículas, os nanofertilizantes poderiam ser projetados para evitar a imobilização de nutrientes no solo e para melhor sincronizar a liberação de nutrientes com a demanda da planta (DEROSA et al., 2010). Partículas de tamanho nanométrico podem potencialmente se mover no solo e alcançar as raízes da planta através de fluxo de massa, provocado pelo movimento de água do solo para raízes criado pela transpiração (MONTALVO, MCLAUGHLIN e DEGRYSE, 2015).

A estratégia envolvendo a dispersão de fontes de fosfato mineral em ureia e amido termoplástico (TPSUr) tem um grande potencial, permitindo a liberação controlada de N e aumentando a disponibilidade de P no solo. Giroto et al (2017) estudaram o efeito de TPSUr como matriz de encapsulamento de fertilizante fosfatado, concluíram que a interação entre Hap e ureia são provavelmente os fatores responsáveis por reduzir a imobilização do fósforo e, conseqüentemente, proporcionaram maior disponibilidade de P no solo durante o período de incubação analisado.

Fosfatos nanométricos dispersos em amido termoplástico com ureia apresentam maior disponibilidade de P após o período de incubação, mostrando uma diminuição da adsorção de P pelo solo em comparação com superfosfato simples e hidroxiapatita pura. Este resultado pode ser explicado por dois fatores: o primeiro está relacionado ao aumento do pH do solo em torno das partículas devido à hidrólise da ureia, que pode atingir o pH entre 8 a 9. O segundo fator é a interação entre os íons  $\text{NH}_4^+$  formados durante a hidrólise de ureia e liberação de ânions de P oriundos da hidroxiapatita, proporcionando uma redução na adsorção do fósforo (GIROTO et al., 2017).

Portanto os mesmos autores concluíram que a matriz amido:ureia junto com a Hap são capazes de controlar a liberação da ureia no solo, e conforme a ureia for sendo liberada, sua hidrólise provoca um aumento do pH do solo, que por sua vez reduzirá a adsorção de P no solo, permitindo inferir que os materiais utilizados nesse trabalho podem propiciar uma relação de sinergismo entre as fontes de N e P.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Caracterização da área experimental e solo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Faculdade de Ciências Agronômicas (UNESP-FCA), Botucatu-SP, durante o período de 30 de maio de 2019 a 15 de julho de 2019, com datalogger modelo CR10 Campbell Scientific (Campbell Scientific, Inc., Logan, UT).

O solo selecionado para este estudo foi coletado na Fazenda Experimental Lageado – Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, localizada no município de Botucatu, São Paulo, Brasil (22°46'54" S 48°33'49" O). A coleta foi realizada na profundidade de 0-0,2 m de profundidade, sendo classificado como LATOSSOLO VERMELHO distroférico, LVdf, cujas características químicas e físicas estão detalhadas nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1. Características químicas do solo avaliadas na camada de 0,0-0,20 m.

Solo	pH (CaCl <sub>2</sub> )	M.O. g/dm <sup>3</sup>	P <sub>resina</sub> mg/dm <sup>3</sup>	mmol/dm <sup>3</sup>						V (%)
				H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	
Argiloso	4,4	22	4,0	43	0,9	18	7	26	69	37

Tabela 2. Características granulométricas do solo avaliadas na camada de 0,0-0,20 m.

Solo	Argila	Areia (g/kg)	Silte
Argiloso	438	352	210

### 2.2 Processamento e caracterização dos nanofertilizantes

Com base em estudos anteriores e com base na experiência prévia do grupo de pesquisa as matérias primas utilizadas nas formulações de nanocompósitos foram: ureia, superfosfato triplo, Amidex 3001, ácido cítrico e ácido esteárico.

Foi produzido um gel de amido utilizando a proporção de 56% de amido, 24% de ureia e o restante de água e a esse gel foi adicionado ao superfosfato triplo (ST) (moído apresentando uma de suas dimensões inferior a 100 nm), que foi homogenizado em uma bateadeira planetária e para produção dos pellets um moedor de carne manual foi utilizado para o processamento a frio do material. Esse nanocompósito foi designado como Nano-ST, sendo estudado na forma de grânulo.

Após o processamento do fertilizante foi realizada a caracterização química do mesmo, juntamente com o superfosfato triplo. Com base nas recomendações do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento foram determinados os teores de P total, P em ácido cítrico a 2% (AC), P em citrato neutro de amônio (CNA), P em água (Ag), bem como os teores de potássio (K) e enxofre (S), sendo que os valores encontrados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Composição química dos fertilizantes fosfatos

Fertilizante	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Total	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> AC	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> CNA	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Ag	K <sub>2</sub> O	S
	----- % -----						
Superfosfato Triplo comercial	2,1	41,0	37,0	40,0	40,0	0,8	0,8
Nanocompósito ST	28,0	13,0	9,0	13,0	4,0	0,0	0,0

T- Fósforo Total; AC – Ácido Cítrico a 2% Rel-1:100; CNA - Citrato neutro de amônio; Ag – água

### 2.3 Delineamento experimental e tratamentos

Com o objetivo de avaliar se os nanofertilizantes fosfatados podem aumentar a eficiência da fertilização com P em solos ácidos através de uma melhor mobilidade no solo, serão utilizados Plant Growth Containers (PGCs) (Figura 1). O experimento será composto por 2 fertilizantes (ST e Nano-ST) aplicado na superfície do solo, aplicado na região central dos PGCs. A dose aplicada de P foi de 90 mg kg<sup>-1</sup> de solo.

O dispositivo desenvolvido para a formação do tapete de raízes e separação deste do solo consistiu em dois recipientes de cano de PVC com 10 cm de diâmetro e 10 cm de altura, separados por uma tela de nylon. Foram cultivadas três plantas de *Panicum maximum* cv. BRS Zuri em cada PGC. Cada PGC foi composto por dois compartimentos. O compartimento superior foi preenchido com areia e abrigou o tapete de raízes formadas pelas plantas sobre uma tela de nylon que delimitou os compartimentos, impedindo a transposição das raízes para o solo contido imediatamente abaixo, no compartimento inferior. O compartimento inferior foi preenchido com solo já detalhado anteriormente e foi fechado com uma tela de tecido na extremidade inferior para permitir a ascensão da água por capilaridade.

A areia utilizada no compartimento superior foi lavada com água corrente para retirada de impurezas grosseiras e, em seguida, esterelizada com ácido clorídrico (HCl) na concentração 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Foi fornecida água deionizada no fundo das bandejas que alocam os PGCs. A cada sete dias foi fornecida solução nutritiva de Hoagland com ausência de P.

No tratamento contendo ST foi adicionada ureia com o objetivo de equilibrar a concentração de N com o tratamento contendo o Nano-ST. Os grânulos de ureia foram adicionados juntos com os grânulos de ST.

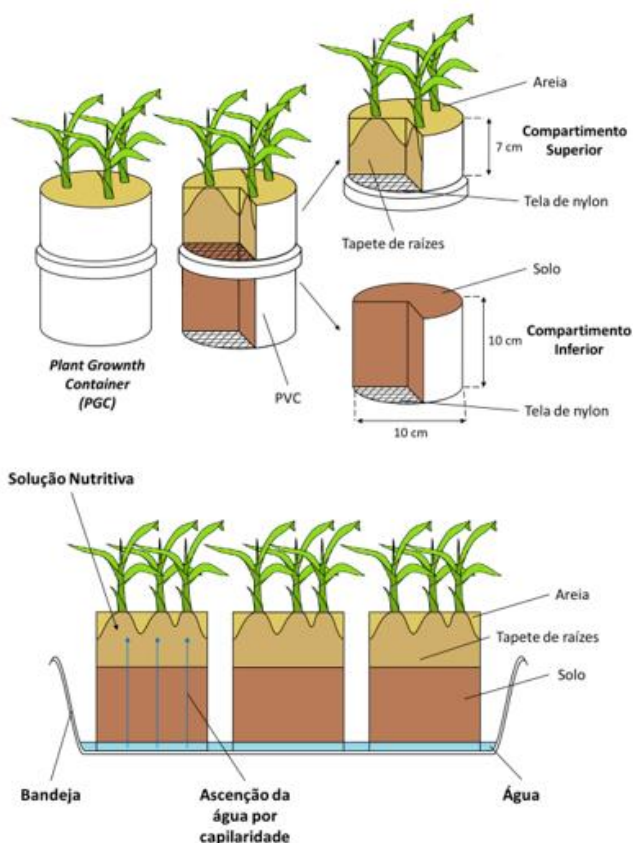


Figura 1. Plant Growth Containers (PGCs)

## 2.4 Análises do tecido vegetal

Para avaliação do estado nutricional das plantas as amostras de folhas utilizadas para determinação de massa de matéria seca foram moídas e digeridas por solução nítrico-perclórica. O teor de P foi determinado em ICP-MS. O teor de N total foi determinado pela digestão sulfúrica e destilação Kjeldhal (MALAVOLTA et al., 1997).

## 2.5. Análise estatística

Nos conjuntos de dados considerados, foi analisada a normalidade dos dados, utilizando-se o teste de Anderson-Darling e verificando-se a homocedasticidade dos dados com o teste da equação da variância (ou teste de Levenn's). Os dados foram submetidos à análise de variância, com níveis de significância de 0,05 de probabilidade de erro, pelo teste F. As médias foram submetidas ao teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro utilizando-se o programa estatístico SISVAR.

## 3. Resultados e Discussão

O teor foliar de N no *Panicum maximum* cv. BRS Zuri foi influenciado pela formulação do fertilizante aplicado no solo.

O tratamento contendo Nano-ST apresentou valor médio de 37 g/kg de N no tecido foliar, enquanto que o tratamento que recebeu a aplicação de ST e ureia comerciais apresentou teor médio de 30,5 g/kg de N.

Esses dados revelam que a mistura de P e N no mesmo grânulo associado ao gel de amido proporcionaram melhor absorção de N do que quando aplicados de forma separada. Tal fato pode ter ocorrido devido a relação sinérgica entre estes nutrientes.

Acredita-se que assim como a solubilidade do P em água reduziu no composto em relação ao produto comercial, o mesmo fato pode ter ocorrido com o N da ureia, seja devido a presença do amido ou pelas relações que P e N apresentam no solo.



Portanto com uma liberação controlada do N acredita-se que houve uma menor perda desse nutriente por volatilização, permitindo que as plantas absorvessem maior quantidade do mesmo, o que resultou no maior teor foliar.

O teor foliar de P não foi influenciado pelas formulações utilizadas nesse estudo.

Tabela 4. Teores foliares de N e P em resposta a aplicação de ST + ureia e Nano-ST.

Tratamentos	N (g/kg)	P (g/kg)
ST +ureia	30,50 b	0,97 a
Nano-ST	37,00 a	1,05 a

#### 4. Conclusões

O Nano-ST propiciou maior teor foliar de N para o *Panicum maximum* cv. BRS Zuri em relação ao tratamento com ST comercial + ureia comercial.

O Nano-ST é um fertilizante promissor, já que demonstrou ser um produto eficiente e sustentável, possuindo melhor aproveitamento pelas plantas e menores perdas para o ambiente.

#### Agradecimentos

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento deste projeto de pesquisa (Processo 2018/01444-3). A EMBRAPA Instrumentação pelo suporte necessário na síntese dos materiais utilizados neste estudo.

#### Referências

- BORM, Paul. et al. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. *Toxicological Sciences*, v. 90, n. 1, p. 23-32, 2006.
- DEROSA, M. C.; MONREAL, C.; SCHNITZER, M.; WALSH, R.; SULTAN, Y. Nanotechnology in fertilizers. *Nature nanotechnology*, v. 5, n. 2, p. 91-91, 2010.
- GIROTO, A. S.; GUIMARÃES, G. G.; FOSCHINI, M., RIBEIRO, C. Role of Slow-Release Nanocomposite Fertilizers on Nitrogen and Phosphate Availability in Soil. *Scientific Reports*, v. 7, p. 46032, 2017.
- GOGOS, Alexander; KNAUER, Katja; BUCHELI, Thomas D. Nanomaterials in plant protection and fertilization: current state, foreseen applications, and research priorities. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 60, n. 39, p. 9781-9792, 2012.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafós, 1997. 319p.
- MONTALVO, D.; MCLAUGHLIN, M. J.; DEGRYSE, F. Efficacy of hydroxy apatite nanoparticles as phosphorus fertilizer in andisols and oxisols. *Soil Science Society of America Journal*, v. 79, n. 2, p. 551-558, 2015.
- POWERS, Kevin W. et al. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part VI. Characterization of nanoscale particles for toxicological evaluation. *Toxicological Sciences*, v. 90, n. 2, p. 296-303, 2006.

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE COMPÓSITOS MULTINUTRIENTES A BASE DE  
DIFERENTES FONTES DE FÓSFORO**A. S. Giroto<sup>1,\*</sup>, S. F. do Valle<sup>2</sup>, A. Molina<sup>2</sup>, H. Reis<sup>3</sup>, G. G. F. Guimarães<sup>4</sup>, C. Ribeiro<sup>1</sup><sup>1</sup> Embrapa Instrumentation, Rua XV de Novembro 1452, CP: 741, CEP: 13560-206, São Carlos, SP<sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, Rod. Washington Luiz, km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, SP<sup>3</sup> Faculdade de ciências agrônômicas de Botucatu, Avenida universitária, 3780, CEP:18610-024, Botucatu, SP<sup>4</sup> Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, Rod. Antônio Heil, 6800, Itajaí, Santa Catarina, CEP: 88318-112

\* Autor correspondente, e-mail: asgiroto@gmail.com

**Resumo:** Este trabalho descreve a preparação de compósitos multinutrientes (NPK) baseados na encapsulação dos nutrientes em matriz de amido termoplástico produzidos na forma de peletes. Foram estudadas diferentes fontes de fósforo, com diferentes graus de solubilidade, a fim de investigar com a morfologia dos materiais poderiam influenciar na dinâmica de liberação de todos os componentes. Ensaio em casa de vegetação foram realizados e observou-se que a presença do amido retardou a liberação dos nutrientes especialmente os mais solúveis com a ureia e o cloreto de potássio.

**Palavras-chave:** fertilizantes NPK, Liberação controlada, compósitos, experimento com plantas

**PREPARATION AND EVALUATION OF COMPOSITE (NPK) BASED ON ALTERNATIVE  
PHOSPHORUS SOURCES**

**Abstract:** This work describes the preparation of multinutrient compounds (NPK), which includes nutrient encapsulation in the thermoplastic starch matrix applied as pellets. Different phosphorus sources with different solubility levels were studied, an end of investigation with a morphology of materials that can influence the release of all components. Tests in the greenhouse were performed and if the presence of starch delayed the release of nutrients especially the most soluble with urea and potassium chloride.

**Keywords:** NPK fertilizer, controlled-Release, composites, pots experiments.

**1. Introdução**

O desenvolvimento de novas tecnologias na formulação de fertilizantes representa uma estratégia fundamental para superar o desafio, o que será o crescimento populacional atinja a marca alarmante de 10 bilhões em 2050 (FAO, 2017). O rendimento e a qualidade das colheitas estão diretamente correlacionados à nutrição eficiente das plantas, alguns nutrientes requerem insumos frequentes de fertilizantes às deficiências do solo, principalmente relacionadas à perda para o meio ambiente em eventos como lixiviação e volatilização ou devido à imobilização por outros componentes do solo. O presente trabalho propõe uma nova estratégia para promover a liberação controlada de macronutrientes primários N, P e K, com base em seus efeitos sinérgicos quando encapsulados por uma matriz orgânica em um único pellet, que é um diferencial deste trabalho. Os compósitos de fertilizantes foram desenvolvidos pela dispersão de P e KCl em uma matriz termoplástica de amido contendo ureia como plastificante para formação de TPS e como fonte de N. Três fontes diferentes de P foram testadas, superfosfato triplo e as rochas fosfatadas (Bayovar e Patos), para investigar como seus distintos parâmetros de solubilidade podem influenciar o comportamento de entrega. Portanto, este sistema CRF combina o papel simultâneo da matriz TPS na regulação da liberação de nutrientes altamente solúveis e como veículo para aumentar as taxas de

dissolução de minerais fosfatados, fornecendo uma abordagem para uma agricultura mais sustentável.

## 2. Materiais e Métodos

Os compósitos foram preparados seguindo inicialmente a formulação 5-8-5 N-P-K. O amido termoplástico (TPS) foi utilizado como dispersor da matriz e para padronizar as cargas totais de nutrientes. As fontes de P (superfosfato triplo (TSP), rocha Bayovar e rocha de Patos de Minas) foram utilizadas em diferentes proporções para cada produção de compósito, conforme apresentado. Para a síntese de TPS, uma mistura física de amido de milho, glicerol e água destilada foi utilizada. Para obtenção dos compósitos NPK, as formulações foram processadas em uma extrusora de parafuso duplo co-rotativa (L / D = 40, modelo ZSK-18 Coperion) equipada com elementos de acionamento e mistura, configurada com uma velocidade de rotação de 120 rpm e 5 zonas de aquecimento às temperaturas de 100, 105, 105, 110 e 110° C. Após secagem em temperatura ambiente, todos os materiais foram cortados em pellets e acondicionados em sacos plásticos.

### 2.1 Caracterizações

As morfologias da superfície dos compósitos foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando um microscópio JSM6510 (JEOL).

### 2.2 Teste em casa de vegetação com plantas

Um experimento em casa de vegetação foi realizado para avaliar a eficiência de absorção de N, P e K em uma gramínea tropical (*Urochloa brizantha*). Utilizou-se a camada superficial (0-0.20 m) de um Latossolo. Para observar a absorção de NPK pelas plantas, 1 kg de solo foi adicionado em vasos plásticos com fertilizantes previamente incorporados para fornecer 150 mg kg<sup>-1</sup> de P dos diferentes compósitos (NPK-TSP, NPK-Bay e NPK-Patos, além da mistura das fontes puras). As doses de N e K adicionadas no solo a partir dos compósitos ou das misturas foram suplementadas com sulfato de amônio ou KCl para padronizar as doses de N e K para 150 e 100 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Também foi avaliado um tratamento controle sem fertilização com N-P-K. Cerca de 8 sementes de *Urochloa brizantha* (cv. Piatã) foram semeadas na superfície do solo de cada vaso e o sistema (solo + semente) foi umidificado e fertilizado com uma solução nutricional contendo MnSO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, CuSO<sub>4</sub>, ZnSO<sub>4</sub> e Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, conforme Malavolta (1980). Os vasos foram expostos à luz artificial (fotoperíodo: 12 horas), à temperatura ambiente, e a umidade foi mantida em torno de 70% do WHC. Após a germinação, o desbaste foi realizado cinco dias depois para obter um suporte final de quatro plantas por vaso. Foi adicionada água conforme a necessidade de manter a umidade do solo constante. A captação de N-P-K foi determinada a partir do corte realizado a uma altura de 5 cm para subsequente re-crescimento aos 30, 60 e 90 dias de semeadura de forragem. Após o cultivo forrageiro, uma subamostra de solo de cada vaso foi enviada ao laboratório para quantificar o P residual, extraído pela resina de troca aniônica. As partes aéreas da forragem foram coletadas e secas em estufa de ar forçado a 70 ° C por 72 h para obtenção da matéria seca (MS). Após pesar o DM, a amostra foi moída para <1 mm com um moinho Wiley. O conteúdo total de N foi determinado por análise elementar (CHN). As amostras de DM foram digeridas em solução nítrico-perclórica, para a determinação do teor de P e K, utilizando-se o plasma indutivamente acoplado (ICP). A captação de nutrientes (N, P ou K) foi calculada a partir do teor de matéria seca de cada corte (MS, em kg pote<sup>-1</sup>) e do valor do teor de nutrientes (NC mg kg<sup>-1</sup>) (Equação 1).

$$\text{Absorção de nutrientes (mg por vaso)} = \text{DM} \times \text{NC} \quad (\text{Eq. 1})$$

Os dados de DM cumulativa e absorção de nutrientes por *Urochloa brizantha* durante o período experimental de 90 dias foram submetidos a análises estatísticas e as médias de tratamento foram comparadas com o uso da diferença honestamente significativa de Tukey em P <0,05.

### 3. Resultados e Discussão

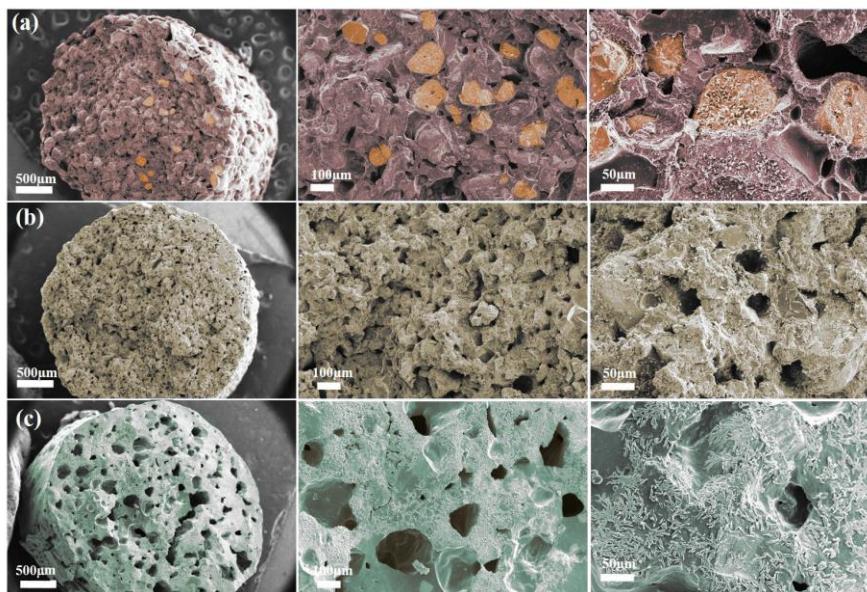


Figura 1. Imagem da seção transversal e suas diferentes ampliações dos compósitos: (a) NPK-TSP (cor laranja refere-se a partículas de KCl), (b) NPK-Bay e (c) NPK-Patos.

A Figura 1 mostra imagens SEM dos compósitos em três ampliações diferentes. O NPK-TSP (Figura 1a) exibe uma morfologia relativamente homogênea, com uma superfície mais uniforme que os outros compósitos, indicando uma melhor dispersão dos nutrientes na matriz TPSurea. O material também exibe uma estrutura muito porosa, que pode ser atribuída à perda de água superficial e estrutural da TSP durante o processamento, uma vez que sua estrutura é mais hidratada do que as outras fontes de fósforo. Ambas as características podem influenciar a dinâmica de dissolução e a eficiência do fertilizante. A rede porosa fornece mais acessibilidade para a penetração de água na estrutura e, portanto, otimiza a dissolução e liberação de nutrientes, enquanto com menos aglomeração de nutrientes, esses componentes podem exibir uma área de superfície aumentada, o que também pode melhorar a taxa de dissolução. NPK-Bay e NPK-Patos (Figura 1b e 1c, respectivamente), por outro lado, revelaram uma estrutura heterogênea complexa. As imagens do meio e da direita do NPK-Bay mostram os domínios dos nutrientes, compostos por partículas mais leves do tipo arredondado com tamanhos variados, incorporadas na matriz TPSurea, uma fase contínua mais suave com morfologia levemente porosa. Embora a estrutura do NPK-Patos pareça menos coesa, exibe poros menores que os outros compósitos, o que pode aumentar a área superficial do fertilizante e sua interação com a água e outros componentes do solo.

A Figura 2 mostra as imagens da colheita aos 30, 60 e 90 dias de cultivo. Após 30 dias, observa-se um crescimento considerável para NPK-TSP e NPK-Bay, bem como para sua mistura. NPK-Patos e sua mistura, por outro lado, têm rendimento semelhante ao tratamento controle. O desenvolvimento inicial de forragem no solo sem adubação e na adubação com NPK-Patos ou Mix-Patos foi limitado devido à baixa disponibilidade de P. Como esperado, o fosfato de Patos de Minas não foi capaz de fornecer P adequadamente no estágio inicial de crescimento da forragem, comprometendo o desenvolvimento do sistema radicular e, conseqüentemente, a produção de matéria seca da forragem durante todo o período avaliado. De acordo com RAZAQ et al. (2017) e CUNHA et al. (2009), a fertilização com P é mais necessária na fase inicial do crescimento das plantas, devido à sua importância na formação do sistema radicular. Por outro lado, as plantas fertilizadas com Mix-Bay ou NPK-Bay apresentaram desenvolvimento inicial mais semelhante / próximo às plantas fertilizadas com a fonte convencional (solúvel) Mix-TSP ou NPK-TSP no primeiro corte. No entanto, a capacidade de re-crescimento de forrageiras fertilizadas com Bayovar foi menor do que as fertilizadas com TSP, resultando em uma diferença mais significativa na produção de matéria seca nos cortes subsequentes.

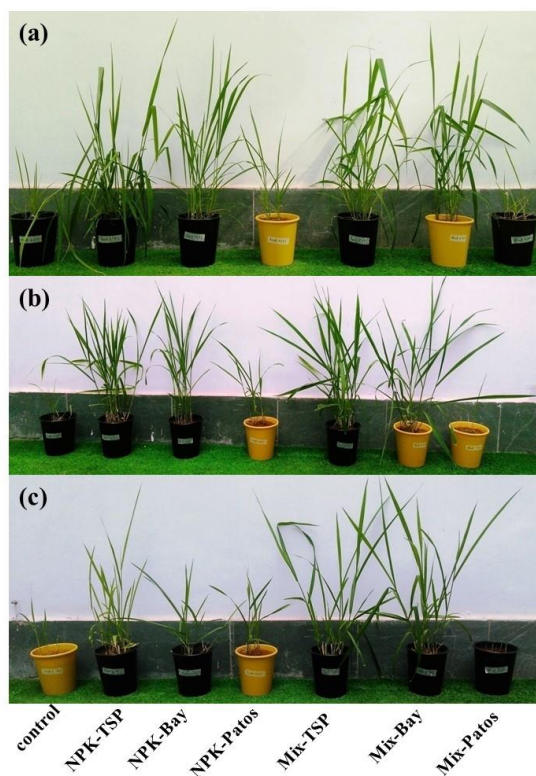


Tabela 1. Dados de produção de matéria seca e suas respectivas capturas de nutrientes (N, P e K) e fósforo remanescentes no solo após o cultivo de forragem (P-rem).

Compósitos	Matéria seca	N	P	K	P-rem
	g/kg		mg/kg		mg/dm
Mix-Patos	0.0 d	0.0 d	0.0 e	0.0 e	3.8 cd
NPK-Patos	2.4 c	98.4 c	2.3 d	58.3 d	0.5 d
Mix-Bay	24.5 a	760.7 a	31.3 b	705.7 ba	11.6 b
NPK-Bay	11.1 b	392.5 b	11.5 c	306.1 c	7.6 bc
Mix-TSP	35.1 a	1044.8 a	64.7 a	899.4 a	35.1 a
NPK-TSP	35.9 a	871.9 a	61.5 a	518.0 bc	32.3 a

Figura 2. Imagens de plantas *Urochloa brizantha* cv. Piatã: (a) antes do primeiro corte (30 dias), (b) segundo corte (60 dias) e (c) último corte (90 dias).

A Tabela 1 resume a produção de MS acumulada (MS de fertilizante - MS de controle), a absorção acumulada de N, P e K pelas forrageiras fertilizadas com os diferentes fertilizantes e fósforo remanescentes no solo após o cultivo das forrageiras (P-rem) (P -rem do fertilizante - P-rem de controle). Observou-se um pequeno aumento na captação de MS e P para forragens fertilizadas com NPK-Patos em relação ao Mix-Patos.

Entretanto, não há uma explicação clara para esse resultado, uma vez que a dispersão das partículas de fosfato de Patos de Minas na matriz TPS reduziu a liberação de P em em relação ao Mix-Patos Por outro lado, a dispersão das partículas de fosfato Bayovar na matriz TPS reduziu o rendimento de forragem e a absorção de P. Confirmando os resultados de liberação, o NPK-Bay apresentou uma menor liberação de P em relação ao Mix-Bay. A barreira física proporcionada pela matriz TPS reduziu o contato das partículas de rocha Bayovar com a solução do solo e, conseqüentemente, a solubilização e liberação de P. Esse resultado difere dos efeitos observados por GIROTO et al. (2017), em que a dispersão de partículas Hap na matriz TPS favoreceu a solubilização dos fosfatos. Vale ressaltar que a rocha Bayovar apresenta uma composição mais complexa e multi-elementar referente aos cristais da hidroxiapatita pura. Além disso, a dispersão das partículas Hap na matriz TPS foi mais homogênea devido ao seu menor tamanho de partícula e à menor proporção de Hap: TPS (GIROTO et al., 2015). Além disso, o composto NPK-TSP exibe liberação mais lenta de P sobre Mix-TSP. Como mostrado, a produção acumulada de MS e a adubação com forragem de absorção de P com ambos os fertilizantes foram semelhantes (Tabela 1). Vale ressaltar o notável desempenho da fonte Bayovar na produção de forragem, quando aplicada ao solo na forma de mistura "Mix-Bay", em relação à fonte solúvel TSP. Em geral, a absorção acumulada de N e K apresentou comportamento semelhante ao observado para o rendimento de MS e a absorção de fósforo. Como já discutido, esse resultado pode ser atribuído a uma relação direta entre a disponibilidade de P (neste caso, a limitação de nutrientes) com o crescimento da forragem e, conseqüentemente, a absorção dos outros nutrientes "N e K" disponíveis no solo.

A quantificação de P disponível no solo após o crescimento e extração da MS forrageira (P-rem) após o período de 90 dias, destaca a baixa eficiência econômica da rocha de Patos de Minas em relação à fonte de Bayovar. Os maiores valores de P-rem das fontes Mix-Patos e Mix-Bay mostraram que o amido termoplástico reduziu a solubilização do fósforo por fosfatos rochosos. Isso ocorre devido à menor exposição dessas partículas de rochas à superfície do solo, sugerindo, neste caso, o uso da formulação Mix em vez de compósitos processados. Independentemente da formulação, os resultados indicam que os fosfatos de Bayovar e Patos de Minas devem ser gerenciados para fornecimento de P a médio e longo prazo, respectivamente.

#### 4. Conclusões

Foi possível preparar através do encapsulamento em matriz de amido termoplástico compósitos multinutrientes. Esses compósitos apresentaram uma liberação mais controlada dos nutrientes altamente solúveis. Esse comportamento também foi observado nos ensaios em vaso onde os compósitos a base de rocha Bayovar tiveram um comportamento muito próximo ao compósito a base de material comercial.

#### Agradecimentos

Agradecemos ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia de Pesquisa em Energia e Materiais (LNNano) pelas instalações e suporte técnico e a FAPESP pela bolsa do projeto 2018/10104-1.

#### Referências

- CUNHA, A. C. M. C. M. et al. Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. *Pesquisa Florestal Brasileira*, n.58, p.37-47, 2009.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The Future of Food and Agriculture - Trends and Challenges*. 2017.180p.
- GIROTO, A. S.; FIDÉLIS, S. C. & RIBEIRO, C. "Controlled release from hydroxyapatite incorporated into biodegradable soluble host matrixes." *RSC Adv.*, 5: 104179, 2015.
- GIROTO, A. S.; GUIMARÃES, G. F. G.; FOSCHINI, M. & RIBEIRO, C. "Role of Slow-Release Nanocomposite Fertilizers on Nitrogen and Phosphate Availability in Soil." *Sci. Rep.*, 13(7): 46032, 2017.
- MALAVOLTA, E. *Elementos de nutrição de plantas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.
- TRENKEL, M.E. *Slow- and Controlled-Release and Stabilized Fertilizers: An Option for Enhancing Nutrient Use Efficiency in Agriculture*. 2010.163p.
- RAZAQ, M.; ZHANG, P.; SHEN, H-L.; SALAHUDDIN. Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of Acer mono. *PLoS ONE* 12(2):0171321.

**PROPRIEDADES REOLOGICAS DE SOLUÇÕES FILMOGÊNICAS DE GELATINA E NANOCRISTAIS DE CELULOSE PARA PRODUÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS POR CASTING CONTÍNUO**

L. S. F. Leite<sup>1,\*</sup>, F. K. V. Moreira<sup>2</sup>, J. Bras<sup>3</sup>, L. H. C. Mattoso<sup>4</sup>,

<sup>1</sup> PPG-CEM – Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> DEMa - Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> LGP2 - Laboratoire Génie des Procédés Papetiers, rue de la Papeterie, 461, 38402, Saint Martin d'Hères, France

<sup>4</sup> Embrapa Instrumentação, rua 15 de novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: lilianesamara@gmail.com

**Resumo:** A maioria dos estudos para produção de filmes à base de proteínas faz uso da técnica clássica de *casting*. No entanto, esta técnica requer tempos de secagem relativamente longos e obtém filmes com pequenas dimensões, o que torna essa técnica impraticável em escala industrial. Neste trabalho, propomos estudar uma formulação adequada para produzir filmes biodegradáveis de gelatina em larga escala por *casting* contínuo, bem como investigar o efeito da adição de CNCs nas propriedades físicas dos filmes obtidos. Os filmes de gelatina/CNCs produzidos por *casting* contínuo exibiram homogeneidade e continuidade, e ausência de fraturas e partículas insolúveis na superfície. Além disso, a adição de 1 % em massa de CNCs ao bionanocompósito de gelatina levou a um aumento no alongamento a ruptura de 148%, em comparação com o puro filme de gelatina. Os resultados mostram que os filmes de gelatina/CNCs apresentam um alto desempenho, e que o uso de *casting* contínuo é um método de processamento em larga escala compatível para a produção de filmes biodegradáveis a partir de gelatina.

**Palavras-chave:** biodegradável, proteína, nanocristais de celulose, *casting* contínuo, *scale-up*.

**RHEOLOGICAL PROPERTIES OF FILM-FORMING SOLUTION OF GELATIN-CELLULOSE NANOCRYSTALS TO PRODUCTION OF BIODEGRADABLE FILMS BY CONTINUOUS CASTING**

**Abstract:** Most studies report the production of protein-based films using the classical casting technique. However, this technique requires relatively long drying times and obtains films with small dimensions, which make this technique impracticable at industrial scale. In this work, we propose to study a suitable formulation to produce gelatin-cellulose nanocrystals bionanocomposites at large scale by continuous casting, as well as to investigate the effect of the addition of cellulose nanocrystals on the physical properties of resulting films. Gelatin/CNCs films produced by continuous casting displayed handle ability, homogeneity, and continuity, whereas fractures and insoluble particles on their surface were absent. Furthermore, the addition of CNCs led to a maximum elongation increase of 148% for 1.0 wt% CNCs gelatin bionanocomposite compared to neat gelatin film, obtained by continuous casting. The results show not only the high performance gelatin/CNCs but the use of continuous casting as large-scale compatible processing method for producing biodegradable films from gelatin.

**Keywords:** biodegradable, protein, cellulose nanocrystals, continuous casting, *scale-up*.

**1. Introdução**

A utilização de embalagens ao longo da história trouxe diversos benefícios para a

humanidade, contribuindo de maneira significativa para o desenvolvimento do comércio e o crescimento das cidades. No entanto, seu uso desordenado produz um grande volume de resíduos sólidos, cujo descarte incorreto ou não planejado, pode gerar um impacto ambiental. Atualmente, um grande número de pesquisas tem se concentrado no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis para tentar solucionar esse problema (NOORBAKHS-SOLTANI; ZERAFAT; SABBAGHI, 2018; SILVA et al., 2019; SUKYAI et al., 2018)

Embalagens biodegradáveis podem ser produzidas a partir de diferentes matérias-primas, sendo as mais utilizadas os polissacarídeos, lipídeos e proteínas (XIE et al., 2014). As proteínas, no entanto, apresentam vantagens como maior potencial de formação de ligação intermolecular, por meio de ligações covalentes, e superiores propriedades de barreiras ao oxigênio, substâncias aromáticas e óleos, quando comparadas, por exemplo, aos polissacarídeos (HOSSEINI; GÓMEZ-GUILLÉN, 2018).

Entre as principais proteínas destaca-se a gelatina. A gelatina é obtida através da dissociação térmica ou química das cadeias polipeptídicas do colágeno (NISHINARI et al., 2014; PASCHOALICK et al., 2003; SANTOS et al., 2014). Essa macromolécula apresenta propriedades como alta processabilidade e excelente capacidade de formação de filme, além de ser abundante, de baixo custo e biodegradável (MONDRAGON et al., 2015). No entanto, filmes de gelatina são sensíveis à umidade e a permeabilidade ao vapor de água, o que limita a sua aplicação industrial (HOSSEINI; GÓMEZ-GUILLÉN, 2018).

Várias estratégias tem sido relatadas na literatura para melhorar as propriedades físicas dos filmes de gelatina. Dentre essas estratégias, destaca-se o uso de nanocristais de celulose (CNCs) como cargas de reforço para filmes proteicos (SUKYAI et al., 2018). Os CNCs são domínios cristalinos de celulose que apresentam alto módulo de elasticidade ( $\sim 150 \pm 50$  GPa) e alta resistência à tração ( $\sim 7,5$  GPa), além disso, são obtidos de fontes renováveis, são abundantes e biodegradáveis (GICQUEL et al., 2017).

A produção de filmes de proteínas geralmente é realizada por meio do método de *casting* clássico, no qual filmes são obtidos através da evaporação de solvente em estufas de convecção, por períodos relativamente longos (por exemplo, 6 a 12 h), sendo essa a principal desvantagem dessa técnica, tornando-a inviável para a produção industrial de filmes proteicos (OTONI et al., 2017). O *casting* contínuo é um método alternativo para a produção em larga escala de filmes biodegradáveis de fonte renováveis. Nesta técnica, a solução de polímero é continuamente laminada sobre um substrato em movimento usando um dispositivo de faca de *coating* (*doctor Blade*), o que permite o fino controle da espessura da lâmina úmida. Na sequência, a solução laminada passa por duas câmeras secagem por convecção de ar com temperaturas controladas. O filme é obtido na saída da segunda estufa no estado seco e, posteriormente, é bobinado em rolos para ser armazenado. A principal vantagem é o menor tempo de secagem do filme, devido ao uso de temperaturas muito mais altas do que o *casting* clássico e o excelente controle da espessura final do filme.

O objetivo deste trabalho foi determinar o comportamento reológico de formulações filmogênicas visando alcançar condições adequadas de fluxo e a laminação para produção de filme proteicos por *casting* contínuo, bem como produzir filmes de gelatina/CNCs e avaliar o efeito de CNCs nas propriedades mecânicas dos filmes obtidos pelo método *casting* contínuo.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Materiais

Gelatina bovina 180 Bloom, 30 mesh, tipo B, na forma de pó, livre de plastificantes e aditivos foi fornecida pela Gelco Indústria e Comércio (Brasil). Nanocristais de celulose foi obtido da Celluforce (Canadá). Glicerol foi obtido da Sigma-Aldrich (EUA). Todos os reagentes foram utilizados sem nenhuma etapa de purificação. Utilizou-se água deionizada em todos os experimentos.



## 2.2. Preparação das soluções formadoras de filmes (SFF)

As suspensões de gelatina contendo CNCs foram preparadas de acordo com as etapas sugeridas por Santos et al. (2014). Para selecionar a melhor formulação a ser usada na produção de filmes de gelatina pelo método de *casting* contínuo, foram testadas SFF contendo 10, 20 e 30% em massa de gelatina e 20% em massa de glicerol (em relação a massa seca de gelatina). Para o estudo do efeito dos CNCs nas propriedades físicas da SFF, foram preparadas quatro SFF de gelatina/CNCs, nas seguintes concentrações: 0, 0,5, 1,0 ou 2,5% em massa de CNCs (em relação a massa seca de gelatina) e 20% em massa de glicerol (em relação a massa seca de gelatina).

## 2.3. Preparação de filme biodegradáveis de gelatina/CNCs por *casting* contínuo

A SFF foi depositada e transformada sobre um substrato de poliéster (Mylar, DuPont, Brasil) em uma equipamento de *casting* contínuo, implementado em unidade de *coating* KTF-S (Werner Mathis AG, Suíça). A distância entre o substrato e a faca de *coating*, usada para regular a espessura da lâmina úmida e laminar a SFF sobre o substrato, foi fixada em 1,00 mm. A velocidade do transporte e as duas câmeras de secagem foram ajustadas em 0,20 m.min<sup>-1</sup> e 80 °C, respectivamente. Na saída da câmara, os filmes secos foram bobinados automaticamente e armazenados a 50% UR e 25 ± 2 °C. Nessas condições, o processo de *casting* contínuo é capaz de produzir até 12 metros de filmes de gelatina por hora.

## 2.4. Caracterizações

A análise de viscosidade em função da taxa de cisalhamento de SFF contendo diferentes concentrações de gelatina foi realizada em um reômetro Physica MCR101 (Anton Paar, Áustria) usando geometria de cilindros concêntricos. A taxa de cisalhamento foi aumentada de 0 para 150 s<sup>-1</sup> em 10 minutos e os testes foram realizados a 30 °C. As propriedades mecânicas dos filmes de gelatina/CNCs foram determinadas de acordo com a ASTM D882-12 (ASTM, 2012, em uma máquina universal de ensaios mecânicos, modelo DL3000 - EMIC Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda, equipada com célula de carga de 10 kgf. Os dados foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA). Os valores médios foram comparados pelo teste de Tukey, com nível de confiança de 95% (p < 0,05).

## 3. Resultados e Discussão

O estudo das propriedades reológicas de suspensões formadoras de filmes (SFF) é de grande importância para a avaliação da capacidade de laminação e determinação da formulação mais adequada para produção de filmes por *casting* contínuo. A Figura 1 apresenta as curvas de fluxo para SFF contendo diferentes concentrações de gelatina. Todas as soluções analisadas apresentaram comportamento pseudoplástico em função da taxa de cisalhamento aplicada. O comportamento pseudoplástico é considerado o mais adequado para produção de filmes por *casting* contínuo, uma vez que as SFF devem apresentar baixa viscosidade sobre cisalhamento, para garantir condições de fluxo apropriadas sob a lâmina, e viscosidades mais elevadas em baixas tensões de cisalhamento geradas imediatamente após a faca de *coating*, para minimizar fluxo indesejado e efeitos de sedimentação (ORTIZ et al., 2017). Como esperado, o aumento na concentração de gelatina levou a um aumento na viscosidade aparente da SFF, sendo o valor para SFF contendo 30% de aproximadamente 10<sup>4</sup> Pa.s.

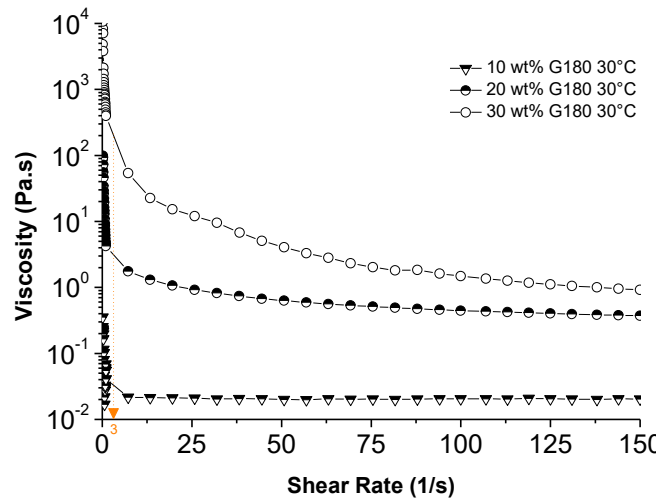


Figura1. Viscosidade aparente das SFF contendo diferentes concentrações de gelatina.

Na literatura, geralmente são encontrados trabalhos de filmes de gelatina obtidos por *casting* produzidos usando SFF contendo  $\leq 10\%$  em massa de gelatina (BHOWMIK et al., 2017; MONDRAGON et al., 2015; NING et al., 2015). No entanto, para a produção de filmes de gelatinas pelo método de *casting* contínuo, esta concentração não foi adequada, pois a suspensão apresentou viscosidade muito baixa (0,4 Pa.s) o que favoreceu o escoamento da SFF para fora do substrato antes de ser laminada pela a faca de *coating*. Além disso, FFS contendo 30% de gelatina apresentou viscosidade muito elevada, não sendo possível formar uma lâmina úmida homogênea, resultando em filmes descontínuos. Já SFF contendo 20% em massa de gelatina, exibiu viscosidade (~100 Pa.s) e propriedades de fluxo adequadas e pode ser laminadas adequadamente sobre o suporte. Dessa forma, SFF contendo 20% em massa de gelatina foi a formulação selecionada para avaliar a influência dos CNCs nas propriedades físicas dos filmes de gelatina/CNCs obtidos por *casting* contínuo.

As propriedades mecânicas dos filmes biodegradáveis de gelatina/CNCs, obtidos por *casting* contínuo são apresentados na Tabela 1. Nota-se que a adição de CNCs na matriz de gelatina, aumenta a resistência à tração e o módulo de Young dos filmes, sugerindo que houve transferência de tensão da matriz de gelatina para a rede de CNCs. Além disso, a adição de CNCs levou à um aumento no alongamento de 148% para os filmes de gelatina contendo 1,0% CNCs, quando comparado com o filme de gelatina com 0% CNCs. Esses resultados sugerem que o *casting* contínuo é uma excelente alternativa para a produção em escala larga de filmes biodegradáveis de gelatina/CNCs.

Tabela 1. Propriedades mecânicas dos filmes biodegradáveis de gelatina/CNCs

Filmes	Resistência a tração (MPa)	Módulo de Young (MPa)	Alongamento (%)
Gelatina_0% CNCs	10,4 ± 0,8	346,7 ± 27,2	16,6 ± 5,5
Gelatina_0,5% CNCs	18,3 ± 3,1	514,3 ± 89,8	19,9 ± 7,4
Gelatina_1,0% CNCs	11,4 ± 2,0	400,3 ± 50,5	40,9 ± 15,5
Gelatina_2,5% CNCs	12,1 ± 1,2	511,8 ± 45,5	21,4 ± 7,2

#### 4. Conclusão

Neste trabalho, foram avaliadas SFF contendo diferentes concentrações de gelatina. A determinação do comportamento reológico das SFF mostrou-se fundamental para alcançar o fluxo e a laminação adequada para produção de filme por *casting* contínuo. Dessa forma, SFF contendo 20% de gelatina foram selecionadas para produção de filmes transparentes e flexíveis de gelatina/CNCs utilizando o método de *casting* contínuo. As propriedades mecânicas dos filmes de

gelatina/CNCs foram significativamente aprimoradas após adição de CNCs. Esses resultados sugerem que o aumento das propriedades mecânicas aliado as notáveis melhorias na produtividade desses filmes utilizando o *casting* contínuo são uma alternativa viável para a produção em larga escala de filmes flexíveis para embalagens de alimentos.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a Embrapa Instrumentação, CNPq, SISNANO e a Rede AgroNano. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e pela Fundação de Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) [número de processo 2016/03080-2 e 2018/00278-2]

### Referencias

- BHOWMIK, S. et al. Reinforcement of Gelatin-Based Nanofilled Polymer Biocomposite by Crystalline Cellulose from Cotton for Advanced Wound Dressing Applications. *Polymers*, v. 9, n. 6, p. 222, 13 jun. 2017.
- GICQUEL, E. et al. Cellulose nanocrystals as new bio-based coating layer for improving fiber-based mechanical and barrier properties. *Journal of Materials Science*, v. 52, n. 6, p. 3048–3061, 2017.
- HOSSEINI, S. F.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. A state-of-the-art review on the elaboration of fish gelatin as bioactive packaging: Special emphasis on nanotechnology-based approaches. *Trends in Food Science and Technology*, v. 79, n. July, p. 125–135, 2018.
- MONDRAGON, G. et al. Bionanocomposites based on gelatin matrix and nanocellulose. *European Polymer Journal*, v. 62, p. 1–9, 2015.
- NING, N. et al. Enhanced electromechanical performance of bio-based gelatin/glycerin dielectric elastomer by cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, v. 130, p. 262–267, 2015.
- NISHINARI, K. et al. Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification. *Food Hydrocolloids*, v. 39, p. 301–318, 2014.
- NOORBAKSH-SOLTANI, S. M.; ZERAFAT, M. M.; SABBAGHI, S. A comparative study of gelatin and starch-based nano-composite films modified by nano-cellulose and chitosan for food packaging applications. *Carbohydrate Polymers*, v. 189, n. January, p. 48–55, 2018.
- ORTIZ, C. M. et al. Scale-up of the production of soy (*Glycine max* L.) protein films using tape casting: Formulation of film-forming suspension and drying conditions. *Food Hydrocolloids*, v. 66, p. 110–117, maio 2017.
- OTONI, C. G. et al. Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables-A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 16, p. 1151–1169, 2017.
- PASCHOALICK, T. M. et al. Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile Tilapia. *Food Hydrocolloids*, v. 17, n. 4, p. 419–427, jul. 2003.
- SANTOS, T. M. et al. Fish gelatin films as affected by cellulose whiskers and sonication. *Food Hydrocolloids*, v. 41, p. 113–118, 2014.
- SILVA, A. P. M. et al. Mango kernel starch films as affected by starch nanocrystals and cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, v. 211, p. 209–216, 2019.
- SUKYAI, P. et al. Effect of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse on whey protein isolate-based films. *Food Research International*, v. 107, n. February, p. 528–535, 2018.
- XIE, D.-Y. et al. Soy protein isolate films with improved property via a facile surface coating. *Industrial Crops and Products*, v. 54, p. 102–108, mar. 2014.

**IMOBILIZAÇÃO DA FITASE EM ZEÓLITA MODIFICADA COM NÍQUEL: UMA FERRAMENTA PARA MELHORIA DA ATIVIDADE CATALÍTICA**M. M. Lopes<sup>1,2,\*</sup>, T. C. Coutinho<sup>1,2</sup>, C. S. Farinas<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560970, São Carlos, SP<sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, 13565-905, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: maah\_momesso@hotmail.com

**Resumo:** A fitase é uma enzima capaz de liberar ao menos um grupo fosfato na reação de hidrólise do fitato. Sua principal aplicação é como aditivo em ração animal, podendo atuar também na solução de problemas ambientais e nas indústrias de alimentos, de biocombustíveis e fármacos. A imobilização desta enzima se faz interessante no sentido de melhorar suas propriedades, tornando ainda mais vantajosa a sua utilização nestes segmentos. Neste trabalho, a fitase foi imobilizada em suporte zeolítico modificado com níquel e o estudo do processo de imobilização mostrou a interação eletrostática como principal interação entre enzima e suporte. Após a imobilização, a atividade catalítica foi favorecida, como observado no elevado valor de atividade recuperada obtido (150,33%). Durante a hidrólise do fitato em reação a 37°C por 5 h e carga de 30 UI/g suporte, observou-se uma melhoria da atividade catalítica, com liberação até 20% maior de fósforo pela enzima imobilizada em comparação à enzima livre. Os resultados mostram as vantagens da utilização da enzima imobilizada quando comparada à enzima livre, baseado na melhora da atividade catalítica ocasionada pelo processo de imobilização, indicando o potencial da aplicação da fitase na forma imobilizada nos diversos setores de sua atuação.

**Palavras-chave:** fitase, imobilização enzimática, zeólita, níquel.

***PHYTASE IMMOBILIZATION ON ZEOLITE MODIFIED WITH NICKEL: A TOOL OF IMPROVEMENT ON CATALYTIC ACTIVITY***

**Abstract:** Phytase is an enzyme that releases at least one phosphate group during the hydrolysis of phytate. Its main application is as an additive in animal feed and also act in solutions to environmental problems and in the food, biofuels and pharmaceutical industry. The immobilization of phytase is interesting to improve its properties, becoming even more advantageous the use of the enzyme in these fields. In this work, phytase was immobilized on a zeolitic support modified with nickel, which immobilization process showed that electrostatic interaction was the main interaction between enzyme and support. After immobilization, catalytic activity was favored, as observed in its high value of recovered activity obtained (150.33%). The phytate hydrolysis during 5 h of reaction at 37°C using 30 IU/g support demonstrates an improvement of catalytic activity, with the release of phosphorous 20% higher by the immobilized enzyme than by the free enzyme. The results presented the advantages of the immobilized enzyme compared to the free enzyme, based on the catalytic activity improvements caused by the immobilization process, indicating the potential of the application of phytase in immobilized form in the various sectors which it can act.

**Keywords:** phytase, enzymatic immobilization, zeolite, nickel.

**1. Introdução**

As fitases são enzimas que atuam na hidrólise do fitato, liberando ao menos um fosfato e vêm sendo cada vez mais estudadas pela sua capacidade de atuar em diversos segmentos, como aditivo em ração animal (sua principal aplicação), na indústria de alimentos, de biocombustíveis, de fármacos e nas soluções para problemas ambientais, tais como eutrofização e degradação de

pesticidas, biofertilizantes e biosensores (GESSLER et al., 2018; GONTIA-MISHRA; TIWARI, 2013; MRUDULA VASUDEVAN et al., 2019; RAO et al., 2009).

As propriedades catalíticas da fitase podem ser melhoradas através da imobilização enzimática, tornando seu uso ainda mais atrativo. A imobilização de enzimas pode ser alcançada por diferentes tipos de interação entre enzima e suporte, e para uma imobilização eficiente, devem ser analisadas características do suporte e da enzima, além da aplicação desejada para a enzima imobilizada (FERNANDEZ-LAFUENTE, 2017; SHELDON; VAN PELT, 2013).

As zeólitas apresentam características como alta capacidade de adsorção, área superficial elevada, estabilidade térmica e mecânica e alta capacidade de troca de íons (DAVIS, 1991). As zeólitas são aplicadas em diversos segmentos, entre eles, como aditivo em detergentes, na remoção de isótopos radioativos e contaminantes de águas, aditivo em rações e na indústria de refinaria de óleos (BACAKOVA et al., 2018; RHODES, 2010; WECKHUYSSEN; YU, 2015). Devido às suas excelentes propriedades, além destas aplicações, as zeólitas são atrativas para atuarem como suportes em imobilização de enzimas.

Considerando o interesse em melhorar as propriedades das fitases e as características das zeólitas que as tornam atrativas como suportes para imobilização enzimática, o presente trabalho tem como objetivo a imobilização da fitase em zeólitas modificadas com níquel, buscando avaliar a influência do processo de imobilização nas propriedades da enzima imobilizada, principalmente a atividade catalítica.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Materiais**

A enzima utilizada foi a enzima comercial da Natuphos® E 10000 (BASF), a zeólita comercial 4A Diatom® e o substrato ácido fítico da Sigma-Aldrich (St. Louis, US). Todos os outros reagentes apresentavam grau analítico.

### **2.2. Modificação do suporte**

O suporte foi modificado adicionando o sal  $\text{NiSO}_4$ , na concentração de 50 mM à suspensão de zeólita ( $0,5\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Esta suspensão foi agitada a  $360^\circ\text{C}$ , 30 rpm por 1h, centrifugada por 15 minutos, 8000 rpm, lavada com água destilada e seca em estufa a  $50^\circ\text{C}$  por 30 minutos.

### **2.3. Processo de imobilização**

Este processo consiste na preparação da solução de imobilização com suporte na concentração de  $0,05\text{g}/\text{mL}$ , carga enzimática de 1 mg de proteína/g suporte e o tampão de imobilização no pH e força iônica adequados para cada ensaio. As suspensões de imobilização foram submetidas à agitação  $360^\circ\text{C}$ , 30 rpm por 2 h em temperatura ambiente. Os derivados obtidos foram centrifugados por 2 min a 8000 rpm e lavados 3 vezes com o tampão de imobilização. A concentração de proteína dos sobrenadantes das lavagens foi quantificada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976) a fim de calcular os valores de rendimento de imobilização (RI). Os valores de atividade recuperada (AR) foram obtidos de acordo com método descrito por Harland e Harland (1980) com modificações.

### **2.4. Efeito do pH e da força iônica no processo de imobilização**

Foram realizados os processos de imobilização com tampões na força iônica de 20 mM, variando os pHs em 3, 5, 7 e 9, para determinar o melhor pH de imobilização com base nos valores de RI e AR. Com o tampão no pH selecionado, foram realizados os processos de imobilização variando as forças iônicas em 20 mM, 50 mM, 100 mM e 200 mM, assim definindo a melhor condição de imobilização para o processo. Os ensaios foram realizados em duplicata.

### **2.5. Avaliação da influência do Ni na atividade enzimática**

Foi preparada uma solução estoque de  $\text{NiSO}_4$ , a qual foi adicionada a 2,5 mL de substrato na

concentração de 1,66 mg de fitato em 1 mL de tampão acetato pH 5 100 mM, para reagir com 50  $\mu$ L de enzima livre. A solução de  $\text{NiSO}_4$  foi adicionada ao substrato de forma a atingir concentrações de 10 mM, 5 mM e 1 mM na reação, a qual ocorreu por 15 minutos a 37°C. O controle baseou-se na reação enzimática sem a presença do  $\text{NiSO}_4$  e as medidas foram realizadas em duplicata.

### 2.6. Cinética de hidrólise do fitato

A hidrólise do fitato foi realizada com a fitase livre e imobilizada. O substrato foi preparado em tampão acetato de sódio pH 5, 100 mM, utilizando 20% de carga de sólidos (m/v) e 30 UI/g de substrato. As soluções reacionais permaneceram em agitação 360°C, 30 rpm, 37°C por 5h. Alíquotas foram retiradas em diferentes tempos para quantificar concentração de fósforo liberada nas mesmas em  $\mu$ mol/mL.

### 3. Resultados e Discussão

O estudo do efeito do pH e da força iônica no processo de imobilização possibilitou a definição dos parâmetros que mais favoreceram a interação entre enzima e suporte com base nos valores de RI e AR. Também foi possível inferir qual o tipo de interação predominantemente contribuiu para a adsorção.

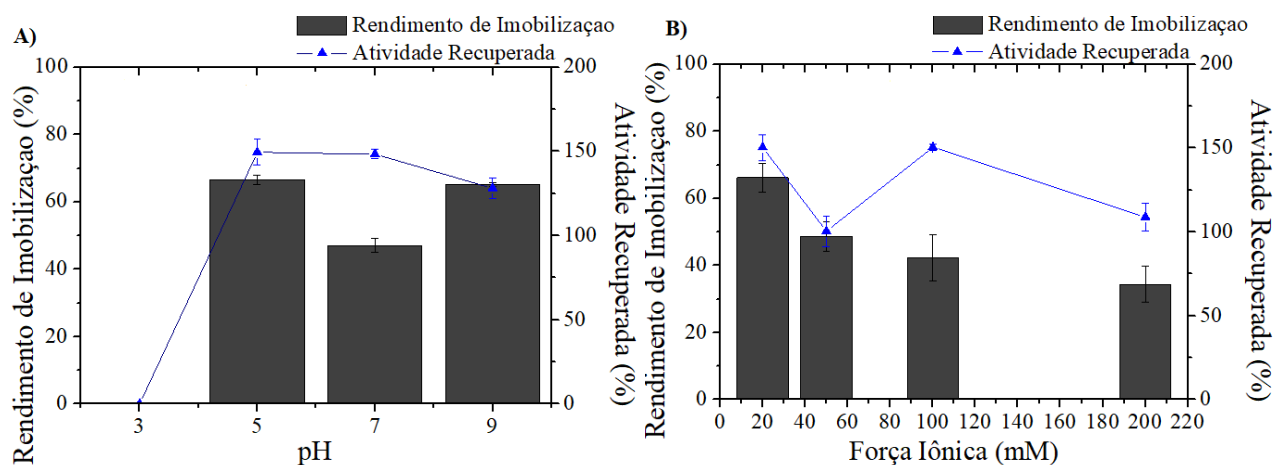


Figura 1. Estudo do efeito de A) diferentes pHs e B) diferentes forças iônicas no processo de imobilização. Carga enzimática de 1 mg proteína/ g suporte, tempo de adsorção de 2h. Os ensaios foram feitos em duplicata.

O pH 5 foi considerado o melhor pH para a imobilização (Fig. 1A), no qual a enzima está negativa de acordo com seu ponto isoelétrico, que está em torno de 4,7, (ULLAH; SETHUMADHAVAN, 2003; WYSS et al., 1999). Por este motivo, a enzima pode ter interagido com as cargas positivas do íon níquel presentes no suporte, indicando uma interação eletrostática. Conforme aumentou-se a força iônica do tampão de imobilização, houve uma queda nos valores de RI (Fig. 1B), o que corrobora com a hipótese da interação eletrostática, já que ocorre a supressão de interações desta natureza em virtude do aumento da força iônica, prejudicando o processo de imobilização (ARNOLD, 1991; JOHNSON; ARNOLD, 2004).

Com os parâmetros de imobilização avaliados otimizados, os resultados de RI chegaram a 66,26% e de AR a 150,33%. Apesar de os valores de RI não terem sido muito elevados, é interessante notar o ganho na atividade catalítica, observado pelo valor maior que 100%. Algumas enzimas são conhecidas por terem suas atividades potencializadas na presença de metais, portanto foi realizado um experimento de avaliação da presença de níquel na atividade da fitase, visto que o suporte utilizado neste trabalho possui este íon. Porém, tal relação não foi encontrada, sendo descartada esta hipótese para explicar os altos valores de atividade recuperada. Uma outra explicação para a melhora na atividade enzimática pode ser uma alteração na conformação da enzima após a sua ancoragem no suporte, favorecendo a entrada do substrato no seu sítio ativo.

O experimento de cinética da hidrólise do fitato mostrou um aumento na liberação de fósforo pela enzima imobilizada em reação à enzima livre. A enzima imobilizada conseguiu liberar quantidades até 20% maiores de fósforo que a enzima livre. (Fig. 2).

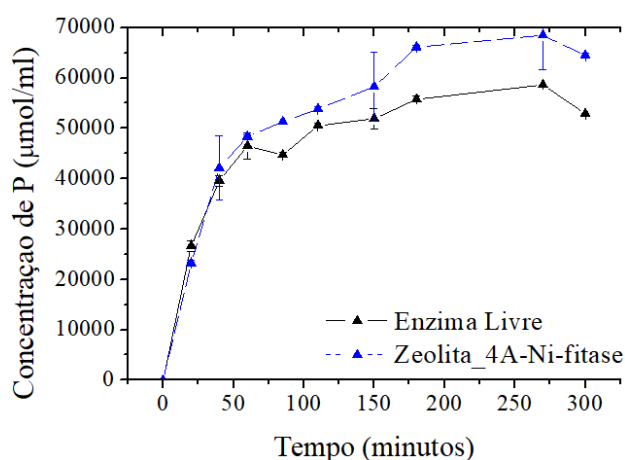


Figura 2. Cinética de liberação de fósforo a partir da hidrólise do fitato pela enzima livre e imobilizada. Carga de sólidos de 20 % e carga de enzimática 30UI/g suporte.

O processo de imobilização enzimática pode ocasionar uma perda, manutenção ou ganho na atividade catalítica. Neste trabalho, houve um aumento desta atividade, que também pode ser explicada pela afinidade entre suporte e substrato (ZHANG, GE; LIU, 2015). O fitato, substrato da fitase, é conhecido por sua capacidade de quelatar metais (SELLE; RAVINDRAN, 2007), e este estando presente no suporte, pode ter promovido a maior captura de substratos, o que leva à maior concentração destes ao redor da enzima e conseqüentemente a uma melhora em sua atividade, como visto neste trabalho.

#### 4. Conclusões

O processo de imobilização enzimática da fitase em suporte modificado com níquel ocorreu majoritariamente por interações eletrostáticas. Os altos valores de atividade recuperada não podem ser relacionados com a presença de níquel durante a reação, portanto infere-se que foi ocasionado pelo processo de imobilização, possivelmente devido à maior acessibilidade do substrato ao sítio ativo da enzima após a imobilização ou pela afinidade entre suporte e substrato. A hidrólise do fitato pela enzima imobilizada liberou mais fósforo em comparação à enzima livre, mostrando a vantagem do uso da primeira, com potencial de aplicação nas diversas áreas em que possa atuar.

#### Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Embrapa, ao CNPq, à CAPES e à FAPESP pelo apoio financeiro.

#### Referências

- ARNOLD, F. H. Metal-Affinity Separations- A New Dimension in Protein Processing. **Nature Biotechnology**, v. 9, p. 151–156, 1991.
- BACAKOVA, L.; VANDROVCOVA, M.; KOPOVA, I.; JIRKA, I. Applications of zeolites in biotechnology and medicine-a review. **Biomaterials Science**, v. 6, n. 5, p. 974–989, 2018.
- BRADFORD, M. M. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. ISSN 0003-2697.
- DAVIS, M. E. Zeolites and Molecular Sieves: Not Just Ordinary Catalysts. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 30, n. 8, p. 1675–1683, 1991.
- FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Special issue: Enzyme immobilization 2016. **Molecules**, v. 22, n.

- 4, p. 1–5, 2017.
- GESSLER, N. N.; SERDYUK, E.G.; ISAKOVA, E.P.; DERYABINA, Y.I. et al. Phytases and the Prospects for Their Application (Review). **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 54, n. 4, p. 352–360, 2018.
- GONTIA-MISHRA, I.; TIWARI, S. Molecular characterization and comparative phylogenetic analysis of phytases from fungi with their prospective applications. **Food Technology and Biotechnology**, v. 51, n. 3, p. 313–326, 2013.
- HARLAND, B. F.; HARLAND, J. Fermentative reduction of phytate in rye, white, and whole wheat breads. **Cereal Chemistry**, v. 57, n. 3, p. 226–229, 1980. ISSN 0009-0352.
- JOHNSON, R. D.; ARNOLD, F. H. Review: Multipoint binding and heterogeneity in immobilized metal affinity chromatography. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 48, n. 5, p. 437–443, 2004.
- MRUDULA VASUDEVAN, U.; JAISWAL, A.K.; KRISHNA, S.; PANDEY, A. Thermostable phytase in feed and fuel industries. **Bioresource Technology**, v. 278, n. November 2018, p. 400–407, 2019.
- RAO, D. E. C. S.; RAO, K.V.; REDDY, T.P.; REDDY, V.D. Molecular characterization, physicochemical properties, known and potential applications of phytases: An overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 29, n. 2, p. 182–198, 2009.
- RHODES, C. J. Properties and applications of zeolites. **Science Progress**, v. 93, n. 3, p. 223–284, 2010.
- SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, n. 1–2, p. 1–41, 2007.
- SHELDON, R. A.; PELT, S. VAN. Enzyme immobilisation in biocatalysis: Why, what and how. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 15, p. 6223–6235, 2013.
- ULLAH, A. H. J.; SETHUMADHAVAN, K. PhyA gene product of *Aspergillus ficuum* and *Peniophora lycii* produces dissimilar phytases. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 303, n. 2, p. 463–468, 2003.
- ULLAH, A. H. J.; SETHUMADHAVAN, K.; MULLANEY, E. J. Monitoring of unfolding and refolding in fungal phytase (phyA) by dynamic light scattering. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 327, n. 4, p. 993–998, 2005.
- WECKHUYSEN, B. M.; YU, J. Recent advances in zeolite chemistry and catalysis. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 20, p. 7022–7024, 2015.
- WYSS, M.; PASAMONTES, L.; FRIEDLEIN, A.; RÉMY, R.; TESSIER, M.; KRONENBERGUER, A.; MIDDENDORF, A.; LEHMANN, M.; SCHNOEBELEN, L.; ROTHILISBERGUER, U.; KUSZNIR, E.; WAHI, G.; MULLER, F.; LAHN, H.; VOGEL, K.; ADOLPHUS, P.G.M.; LOON, V. Biophysical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): Molecular size, glycosylation pattern, and engineering of proteolytic resistance. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 2, p. 359–366, 1999.
- ZHANG, Y.; GE, J.; LIU, Z. Enhanced Activity of Immobilized or Chemically Modified Enzymes. **ACS Catalysis**, v. 5, n. 8, p. 4503–4513, 2015.



**REOLOGIA DE GÉIS DE AMIDO DE MILHO INCORPORADOS COM CERA DE ABELHA**B. R. Luchesi<sup>1,\*</sup>, F. K. V. Moreira<sup>2</sup>, J. M. Marconcini<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Rodovia Washington Luís, km 235, CEP 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Departamento de Engenharia de Materiais, Rodovia Washington Luís, km 235, CEP 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, CEP 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: luchesi.bruno@gmail.com

**Resumo:** Avaliar o comportamento reológico de géis de amido de milho incorporados com cera de abelha é um passo importante na obtenção de filmes poliméricos destes componentes por *casting* contínuo. A análise reológica mostrou que os géis são pseudoplásticos e que a incorporação de cera de abelha ao amido de milho reduziu a capacidade de suas cadeias de recuperar uma deformação introduzida por solicitação mecânica. Dessa forma, teores crescentes de cera alteram o comportamento reológico do amido durante o *casting* contínuo.

**Palavras-chave:** *casting* contínuo, amido de milho, cera de abelha, reologia.

**REOLOGY OF BEESWAX INCORPORATED CORN STARCH GELS**

**Abstract:** Evaluating the rheological behavior of corn starch gels incorporated by beeswax is an important step in obtaining polymeric films of these components by continuous casting. The rheological analysis showed that the gels are pseudoplastic and that the incorporation of beeswax to corn starch reduced the ability of their chains to recover a strain introduced by mechanical stress. Thus, increasing wax content alters the rheological behavior of starch during continuous casting.

**Keywords:** continuous casting, corn starch, beeswax, rheology.

**1. Introdução**

Filmes de amido têm sido encarados como alternativas aos polímeros tradicionais não-biodegradáveis no uso como embalagens, uma vez que é biodegradável, abundante, possui baixo custo e fácil processamento. Amidos são formados principalmente por amilose, sua porção linear, e amilopectina, sua porção ramificada, ambas formadas por unidades de glucose e com alta massa molar (MOLAVI et al, 2015; MONTERO et al, 2016). No entanto, a estrutura química das cadeias de amido torna estes filmes susceptíveis à ação da água, uma vez que os grupos polares hidroxila das glucoses interagem com a água, retendo-a. Logo, para aplicar filmes de amido como embalagens, é necessário que um componente hidrofóbico seja adicionado para reduzir a interação com a água. Nesse contexto, a cera de abelha surge como uma alternativa, uma vez que é um lipídeo resistente à ação da água. Essa cera é composta por mais de 300 componentes, sendo 67% (m/m) ésteres, 14% (m/m) hidrocarbonetos e 12% (m/m) ácidos graxos (TULLOCH, 1972).

O *casting* contínuo surge como uma técnica em escala pré-industrial altamente produtiva para a obtenção de filmes de amido. Neste processo, a solução filmogênica de amido, também chamada de gel, é vertida sobre um substrato móvel que a conduz sob uma faca com altura determinada, formando, assim, uma lâmina úmida. Esta lâmina é levada pelo substrato através de estufas, responsáveis por evaporar a água da solução e formar o filme seco de amido. A figura 1 mostra um esquema do processo de *casting* contínuo.

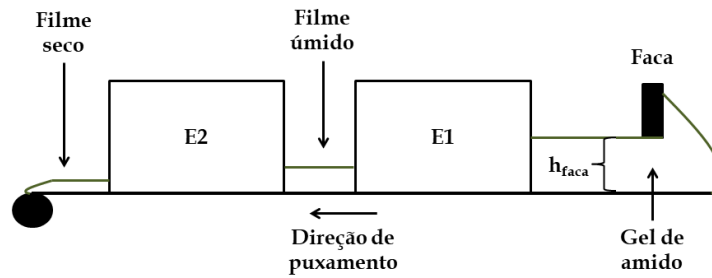


Figura 1. Esquema representativo da técnica de *casting* contínuo.

É de interesse avaliar o comportamento reológico dos géis durante a passagem sob a faca. O presente trabalho busca avaliar esse comportamento através da análise reológica de três formulações de amido com e sem a incorporação de cera de abelha.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Materiais

Amido de milho (72% m/m amilopectina e 28% m/m amilose, Ingredion, São Paulo, Brasil), glicerol (99,5% de pureza, Dinâmica Contemporânea LTDA, Diadema, Brasil) e cera de abelha comercial (100% de pureza, Wendel & Mecca Produtos Naturais, São Carlos, Brasil) foram usados na obtenção dos filmes.

### 2.2. Obtenção dos géis de amido de milho incorporados ou não com cera de abelha

A figura 2 mostra um fluxograma da metodologia adotada.

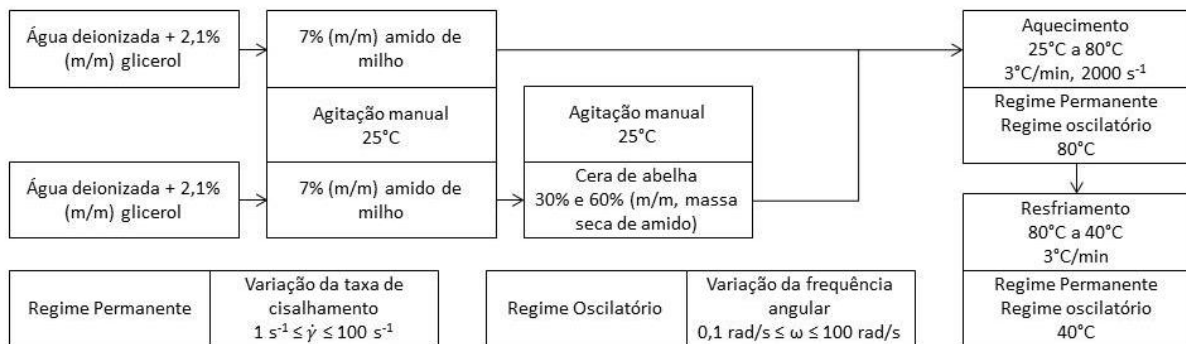


Figura 2. Fluxograma da metodologia adotada para os ensaios reológicos.

As formulações foram denominadas de AM (amido de milho puro), 30C (amido de milho incorporado com 30%, m/m, de cera de abelha) e 60C (amido de milho incorporado com 60%, m/m, de cera de abelha).

## 3. Resultados e Discussão

As curvas de  $\log \eta$  versus  $\log \dot{\gamma}$  para 40°C (figura 03a) e 80°C (figura 3b) para o intervalo de taxa de cisalhamento analisado mostram que todos os géis, independente da temperatura, são pseudoplásticos, uma vez que a viscosidade reduz-se com o aumento da taxa. Dessa forma, pode-se relacionar a viscosidade com a taxa de cisalhamento através da lei das potências (equação 01), linearizada na equação 02. Em ambas,  $n$  representa o quão pseudoplástico é o gel (se aproximando de zero) e  $m$  é denominada consistência, com  $(n-1)$  a inclinação das retas da figura 03 (BRETAS et al, 2005).

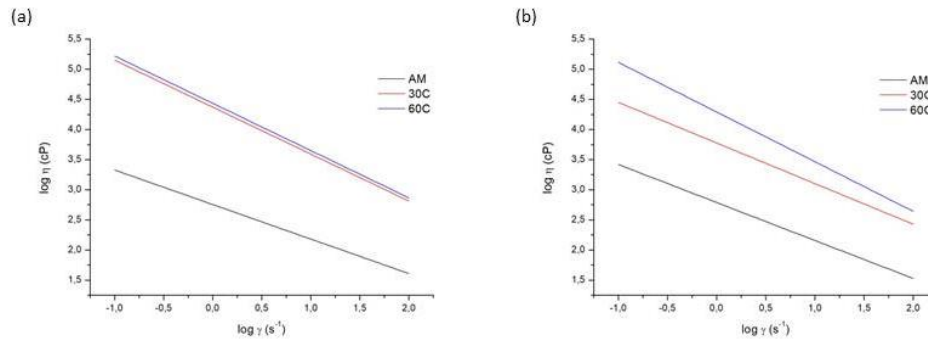


Figura 3. Curvas de viscosidade versus taxa de cisalhamento, mostrando o comportamento pseudoplástico dos géis.

$$\eta = m \cdot \dot{\gamma}^{n-1} \quad (\text{eq. 01})$$

$$\log \eta = \log m + (n-1) \log \dot{\gamma} \quad (\text{eq. 02})$$

Aplicando-se a equação 02 aos dados da figura 03, os valores de  $n$  e  $m$  foram determinados, conforme tabela 1.

Tabela 1. Valores de  $n$ ,  $m$  e  $R^2$  para as formulações a 40°C e 80°C.

Amostra	40°C			80°C		
	n (cP.s)	m (cP)	R <sup>2</sup>	n (cP.s)	m (cP)	R <sup>2</sup>
AM	0,43	406,55	0,926	0,37	544,57	0,959
30C	0,22	25682,28	0,998	0,33	5384,56	0,993
60C	0,21	22469,05	0,997	0,18	17495,58	0,996

Visando o processamento destas soluções filmogênicas por *casting* contínuo, é possível calcular a taxa de cisalhamento do gel sob a faca. Para isso, a equação 03 (BRETAS et al, 2005) é utilizada, na qual  $V_s$  é a velocidade do substrato e  $h_{faca}$  é a altura da faca.

$$\dot{\gamma} = V_s / h_{faca} \quad (\text{eq. 03})$$

Dessa forma, para  $V_s = 0,12$  m/min (equivalente a 2 mm/s) e  $h_{faca} = 1,3$  mm, a taxa de cisalhamento é igual a  $1,538$  s<sup>-1</sup>. Aplicando este valor à equação 03 e substituindo os valores de  $n$  e  $m$  para cada formulação, determinou-se a viscosidade de cada gel na passagem sob a faca (tabela 2).

Tabela 2. Valores de viscosidade  $\eta$  para as formulações a 40°C e 80°C.

Amostra	$\eta$ (cP)	
	40°C	80°C
AM	313,24	408,23
30C	17975,50	3963,24
60C	15654,73	12023,46

Para a temperatura de 40°C, o aumento do teor de cera de abelha no amido aumentou a viscosidade dos géis. A esta temperatura, a cera de abelha é sólida e possui viscosidade muito superior ao gel de amido. Dessa forma, o aumento do teor de cera eleva a quantidade de sólido no gel, aumentando a viscosidade do próprio gel. Para a temperatura de 80°C, a mesma tendência foi observada. Porém, a esta temperatura, a cera de abelha fundiu-se e sua interação com o gel se dá por ligações de hidrogênio entre as carbonilas dos ésteres da cera e as hidroxilas do amido, reduzindo a mobilidade das cadeias de amido e, conseqüentemente, a viscosidade do gel (KAWAI et al, 2012;

WANG et al, 2016).

Quando se compara os valores a 40°C e a 80°C, percebe-se que houve uma tendência à redução da viscosidade para todas as formulações. Para a formulação AM, o ajuste da curva  $\log \eta$  versus  $\log \dot{\gamma}$  em uma reta, dado pelo valor de  $R^2$  na tabela 01, não foi tão alto, razão para o aumento da viscosidade com o aumento da temperatura. Sugere-se que a viscosidade foi reduzida, porém este efeito foi sobreposto pela aproximação não tão exata. Para as demais formulações (30C e 60C), o ajuste foi exato e essa redução ocorreu devido ao aumento da energia térmica das cadeias do gel, o que aumenta sua mobilidade e facilita seu fluxo, reduzindo a viscosidade. Além disso, a presença da cera de abelha entre as cadeias de amido facilita o deslizamento relativo entre elas, aumentando a mobilidade e também contribuindo para a redução da viscosidade.

Percebeu-se, ainda, que a redução da viscosidade para a formulação 30C foi mais pronunciada do que a redução para a 60C. Isso sugere que um efeito plastificante está ocorrendo para o gel 30C e o início de um efeito anti-plastificante, para o gel 60C. Para se confirmar esta hipótese, os resultados da reologia oscilatória são suficientes, uma vez que mostram as respostas elásticas e viscosas dos géis ao esforço que lhes é imposto, através dos módulos de armazenamento ( $G'$ ) e de perda ( $G''$ ), respectivamente. As figuras 4 e 5 mostram a variação de  $G'$  e  $G''$ , respectivamente, com a frequência angular, a 40°C e a 80°C.

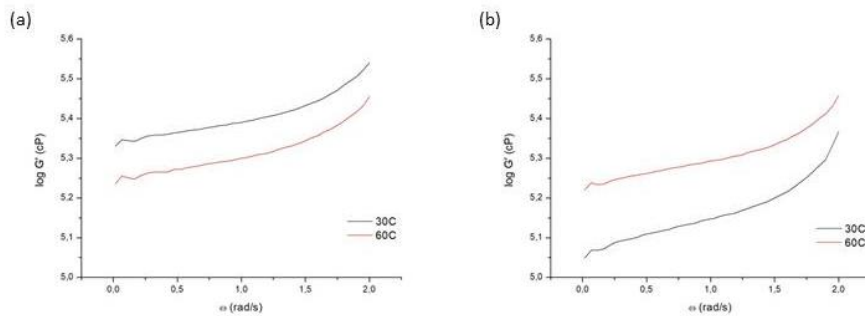


Figura 4. Valores do módulo de armazenamento para (a) 40°C e (b) 80°C.

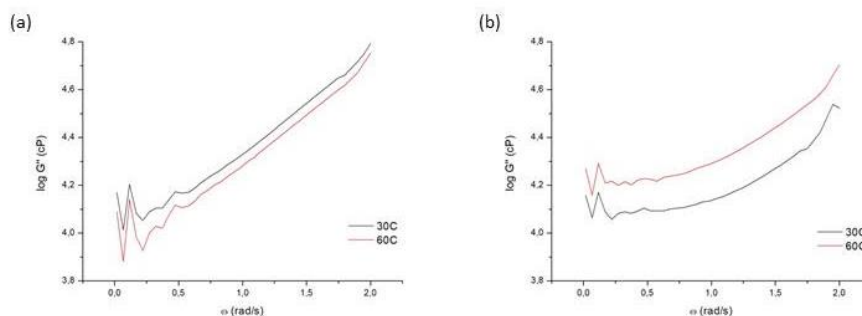


Figura 5. Valores do módulo de perda para (a) 40°C e (b) 80°C.

Segundo a figura 04, o caráter elástico do gel 30C foi reduzido, ao passo que o caráter do gel 60C permaneceu constante. Ou seja, a capacidade das cadeias de amido em recuperar a deformação imposta durante o regime oscilatório é reduzida para o gel 30C. Isto se deve à maior agitação térmica das cadeias e à presença de cera de abelha entre elas. Para a figura 05, percebe-se que o caráter viscoso do gel 30C aumentou, enquanto o caráter do gel 60C permaneceu constante, reforçando a tendência das cadeias de amido de não recuperarem a deformação a elas imposta durante o ensaio. Portanto, a hipótese de plastificação do gel para a formulação com menor teor de cera de abelha é confirmada. Para os géis 60C, a não variação dos módulos de armazenamento e de perda confirma a hipótese de que há um início do efeito de anti-plastificação do gel, uma vez que as cadeias permanecem com mobilidade restrita graças à interação entre as carbonilas e as hidroxilas.

#### 4. Conclusões

A incorporação de cera de abelha aos géis de amido alterou suas viscosidades, além de aumentar suas pseudoplasticidades. Além disso, a cera reduziu a capacidade das cadeias do amido de recuperar uma deformação imposta por solicitação mecânica devido à formação de ligações de hidrogênio entre as carbonilas da cera de abelha e as hidroxilas do amido de milho. Portanto, a adição de cera ao amido altera o comportamento dos géis durante a passagem sob a faca durante o *casting* contínuo.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (UFSCar), ao Departamento de Engenharia de Materiais (UFSCar), à Embrapa Instrumentação, ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e à Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

#### Referências

- BRETAS, R. E. S. Reologia de Polímeros Fundidos. 2ª Ed. São Carlos: EdUFSCar, 2005. 257p.
- KAWAI, K. et al. Complex formation, thermal properties, and *in-vitro* digestibility of gelatinized potato starch-fatty acid mixture. *Food Hydrocolloids*, v. 27, p. 228-234, 1 mai. 2012.
- MOLAVI, H. et al. A review on biodegradable starch based film. *J Microbiol Biotech Food Sci*, v. 4:5, p. 456-461, 1 abr. 2015.
- MONTERO B. et al. Effect of nanocellulose as a filler on biodegradable thermoplastic starch films from tuber, cereal and legume. *Carbohydrate Polymers*, v. 157, p. 1094-1104, 25 out. 2016.
- TULLOCH AP. Analysis of whole beeswax by Gas Liquid Chromatography. *Journal of the American oil Chemists Society*, v.49, p. 609-610, 1 out. 1972.
- WANG, S. et al. Effect of fatty acids on functional properties of normal wheat and waxy wheat starches: a structural basis. *Food Chemistry*, v. 190, p. 285-292, 1 jan. 2016.

**CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE CUTINA DE TOMATE PRODUZIDOS COM DIFERENTES SOLVENTES ORGÂNICOS**

A. L. Mattoso<sup>1,\*</sup>, V. M. Silva<sup>2</sup>, A. Manrich<sup>3</sup>, L. H. C. Mattoso<sup>4</sup>, M. A. Martins<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Av. Duque de Caxias Norte, 225, CEP 13635-900, Pirassununga, SP

<sup>2</sup> UFSCar, Departamento de Química, Rodovia Washington Luis, km 235, São Carlos, SP

<sup>3</sup> FAPED / Embrapa Instrumentação, rua XV de novembro, 1452, CEP 13561-2016, São Carlos, SP

<sup>4</sup> Embrapa Instrumentação, rua XV de novembro, 1452, CEP 13561-2016, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: mattosoanaluiza@gmail.com

**Resumo:** O atual interesse em melhorar a qualidade do meio ambiente, aliado à preocupação devido ao acúmulo crescente de lixo não biodegradável, tem sido incentivo para pesquisas no sentido de utilizar os resíduos agrícolas como alternativa para desenvolvimento de filmes biodegradáveis. A cutina, resíduo obtido da pele do tomate, é um exemplo desse reaproveitamento. Esse componente é uma macromolécula constituída por hidrocarbonetos de ácidos graxos com cadeia longa, ligados através de ligações ésteres. Porém para obter a sua extração é necessário que ocorra a quebra de moléculas, o que acarreta na diminuição da sua hidrofobicidade. Para recompensar essa perda, torna-se fundamental a reconstituição da cadeia polimérica, o que é possível com a utilização de enzimas como a lipase. Nesse sentido, esse trabalho visou avaliar a influência da utilização de diferentes solventes na formulação de filmes de pectina e cutina para determinação do melhor solvente orgânico para a reação enzimática. A partir dos resultados da caracterização dos filmes, conclui-se que foi possível a produção de filme de pectina e cutina com os solventes orgânicos estudados (acetona e isopropanol), o que viabiliza a utilização da enzima. Os solventes mostraram-se igualmente eficientes.

**Palavras-chave:** reutilização de resíduos agrícolas, filmes biodegradáveis, lipase.

**CHARACTERIZATION OF TOMATO CUTIN FILMS PRODUCED WITH DIFFERENT ORGANIC SOLVENTS**

**Abstract:** The current interest in improving the quality of the environment, coupled with concern over the growing accumulation of non-biodegradable waste, has been an incentive for research to use agricultural waste as an alternative for making biodegradable films. Cutin, a residue obtained from tomato skin, is an example of this reuse. This component is a macromolecule consisting of long chain fatty acid hydrocarbons linked via ester bonds. However, to obtain its extraction, it is necessary to break down molecules, which results in a decrease in their hydrophobicity. To compensate for this loss, the reconstitution of the polymeric chain becomes essential, which is possible with the use of enzymes such as lipase. In this sense, this work aimed to evaluate the influence of the use of different solvents in the formulation of pectin and cutin films to determine the best organic solvent in enzymatic reaction. From the results of the characterization of the films, it was concluded that it was possible to produce pectin and cutin film with the studied organic solvents (acetone and isopropanol), which enables the use of the enzyme. Solvents were equally efficient.

**Keywords:** recovery of agricultural waste, biodegradable films, lipase.

**1. Introdução**

O crescente interesse em melhorar a qualidade do meio ambiente, aliado à preocupação gerada pelo acúmulo indiscriminado de lixo não biodegradável, tem sido incentivo para pesquisas

em todo o mundo no sentido de desenvolver embalagens biodegradáveis e/ou comestíveis derivadas de fontes renováveis. As macromoléculas biológicas mais estudadas para este fim são as proteínas e os polissacarídeos, os quais são polímeros capazes de formar matrizes contínuas e ser transformados em filmes e revestimentos comestíveis e/ou biodegradáveis. (MALI e GROSSMANN, 2003).

A produção de tomate foi de cerca 4,40 milhões de toneladas no Brasil em 2017. Durante seu processamento, são gerados resíduos, dentre eles a casca, que é normalmente descartada. A partir da casca do tomate, pode-se obter um biopoliéster macromolecular, formado por uma matriz polimérica lipídica de alta massa molar, que por sua vez é composta por ácidos graxos hidroxilados e epóxi-hidroxilados, com cadeias de 16 e 18 átomos de carbonos (HEREDIA, 2003). A característica lipofílica da cutina a torna interessante para ser usada na elaboração de filmes (LÓPEZ-CASADO et al., 2007). Para a extração da cutina ocorre a quebra das moléculas e conseqüentemente, a diminuição da propriedade de hidrofobicidade e torna-se necessário então sua reconstituição através de uma reação enzimática utilizando lipase. Sendo reconstituída, a cutina pode ser então aplicada na produção de biofilmes. Os catalisadores enzimáticos, como as lipases, são capazes de catalisar eficazmente o processo de hidrólise de ésteres na presença de água e, também reações de esterificação na presença de solventes orgânicos. (MEHER et al., 2006).

Neste trabalho foi realizada a elaboração de filmes de cutina e pectina em diferentes solventes orgânicos com o objetivo de determinar o melhor solvente para a utilização em reação enzimática para reconstituir a hidrofobicidade da cutina.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Materiais

Foram utilizados: cutina, extraída de pele de tomate de variedade *Carmen*, de comércio local; Pectina CK Pelco (Limeira, SP) de alto grau de metoxilação; acetona e isopropanol da marca Synth (Diadema, SP) e demais reagentes em G.A.

### 2.2. Formulação dos filmes

Preparou-se solução de pectina 6 % (m/m) e pH 7 em água, em um sistema de agitação mecânica a vácuo, por 90 min. Para filmes de cutina e pectina (50%/50%), foram utilizados 0,5 g de cutina em 2 g dos solventes água, acetona e isopropanol. Adicionou-se 8,33 g da solução de pectina a 6% e 1,67 g de água Milli-Q sob agitação por 2 h. Para o filme de pectina (0/100%), em água, pesou-se 16,66 g da solução de pectina a 6 % e 3,33 g de água ultrapura e deixou-se sob agitação por 2 h. Os filmes foram secos em placa de petri em estufa a 45 °C por 24 h.

### 2.3. Caracterização dos filmes

#### 2.3.1. Ensaio de absorção de água

Amostras (triplicata) de filmes de 20 x 20 mm foram secas uma estufa a 115 °C por 24 h e depois condicionadas a 25 °C. Foram pesadas e transferidos a um dessecador cuja umidade relativa foi mantida a 50 % com uso de solução saturada de Mg (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Durante o ensaio, os filmes foram pesados de hora em hora nas primeiras 6 horas e depois de 24 em 24 horas por 54 horas. A porcentagem de absorção de água foi obtida pela fórmula da equação 1.

$$\text{Equação 1: Absorção de água (\%)} = \frac{M_{\text{final}} - M_{\text{inicial}}}{M_{\text{inicial}}} 100$$

#### 2.3.2. Ângulo de contato

O ensaio foi realizado em um medidor de contato óptico CAM 101 Optical com câmera digital CCD KSV-5000 e software KSV CAM2008, de acordo com a norma ASTM D5725-99 (2008) da superfície seca em contato com o ar (superior) e em contato com a placa de Petri (superfície inferior); em quintuplicada.

### 2.3.3. Resistência à tração (Texturômetro)

O ensaio mecânico de resistência à tração foi realizado em um texturômetro TA. XT. Plus, de acordo com a norma ASTM D882-12. Utilizou-se comprimento de calibre de 20 mm, com uma força de disparo de 0,04903 N e com alongamento na velocidade de 0,08 mm.s<sup>-1</sup>. Foram determinados o módulo de elasticidade (módulo de Young), resistência à tração e deformação na ruptura.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Ensaio de absorção de água

Resultados do ensaio de absorção de água demonstraram que a adição da cutina promoveu uma menor absorção de água nos filmes, aumentando sua hidrofobicidade, sendo que a resistência em absorver água do ambiente foi ainda maior quando se utilizou os solventes orgânicos acetona e isopropanol. A Figura 1 apresenta a porcentagem massa de água absorvida do ambiente nos filmes ao longo do tempo.

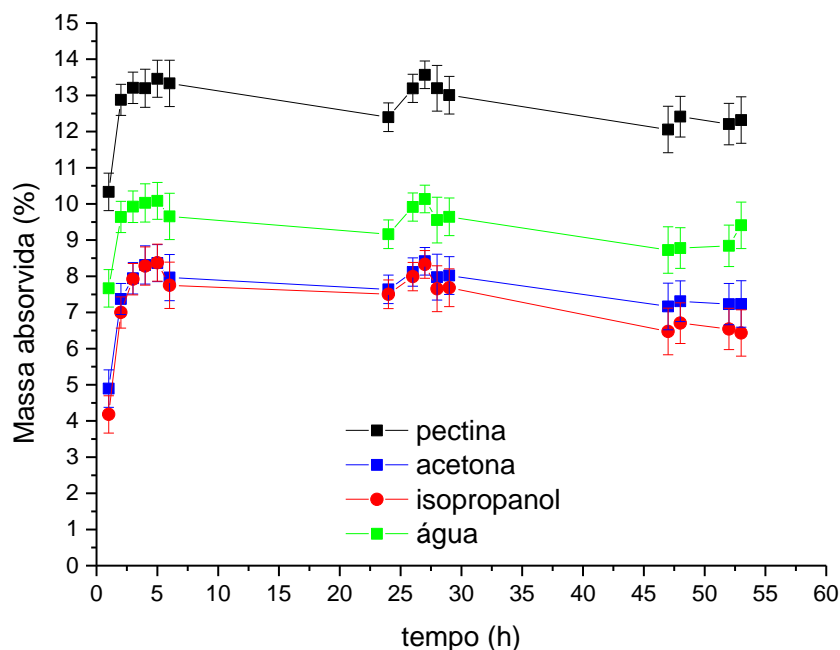


Figura 1. Porcentagem de massa de água absorvida do ambiente nos filmes de pectina puro e pectina contendo cutina obtidos em diferentes solventes, em função do tempo

### 3.2. Ângulo de contato

O ângulo de contato medido para os filmes de pectina puro e de pectina contendo cutina demonstrou o caráter hidrofílico dos filmes, com valores de ângulos menores que 90°. Mesmo com a adição de cutina, componente hidrofóbico, os filmes mostraram-se bastante hidrofílicos, principalmente em sua superfície superior. Isso pode ser explicado pela existência de fissuras surgidas durante a secagem dos filmes, o que também causou a separação de fases pectina / cutina. Filmes preparados com solventes orgânicos acetona e isopropanol apresentaram os menores valores de ângulo de contato, o que demonstra que esses solventes interagem de forma diferente com a cutina e necessitam de maiores investigações. A Figura 2 traz os resultados do ensaio para a superfície superior (2a) e inferior (2b).

### 3.3 Resistência à Tração

O ensaio mecânico de tração realizado no texturômetro mostrou que todos os filmes preparados com pectina apresentaram-se frágeis, sendo o menos frágil foi o de pectina pura, provavelmente por possuir uma matriz mais compacta e contínua. Os resultados de resistência à tração, módulo elástico e tensão de ruptura são mostrados na Tabela 1, juntamente com a espessura



de cada filme. Após a adição de cutina nos filmes, houve uma queda no valor de resistência de tração dos filmes para os três solventes testados, sem diferença significativa entre eles. Isso pode ser explicado pelo fato que, através da adição de cutina, a matriz polissacarídica de pectina torna-se menos compacta e surgem imperfeições no filme, devido à separação de fases ocorrida durante a secagem em batelada.

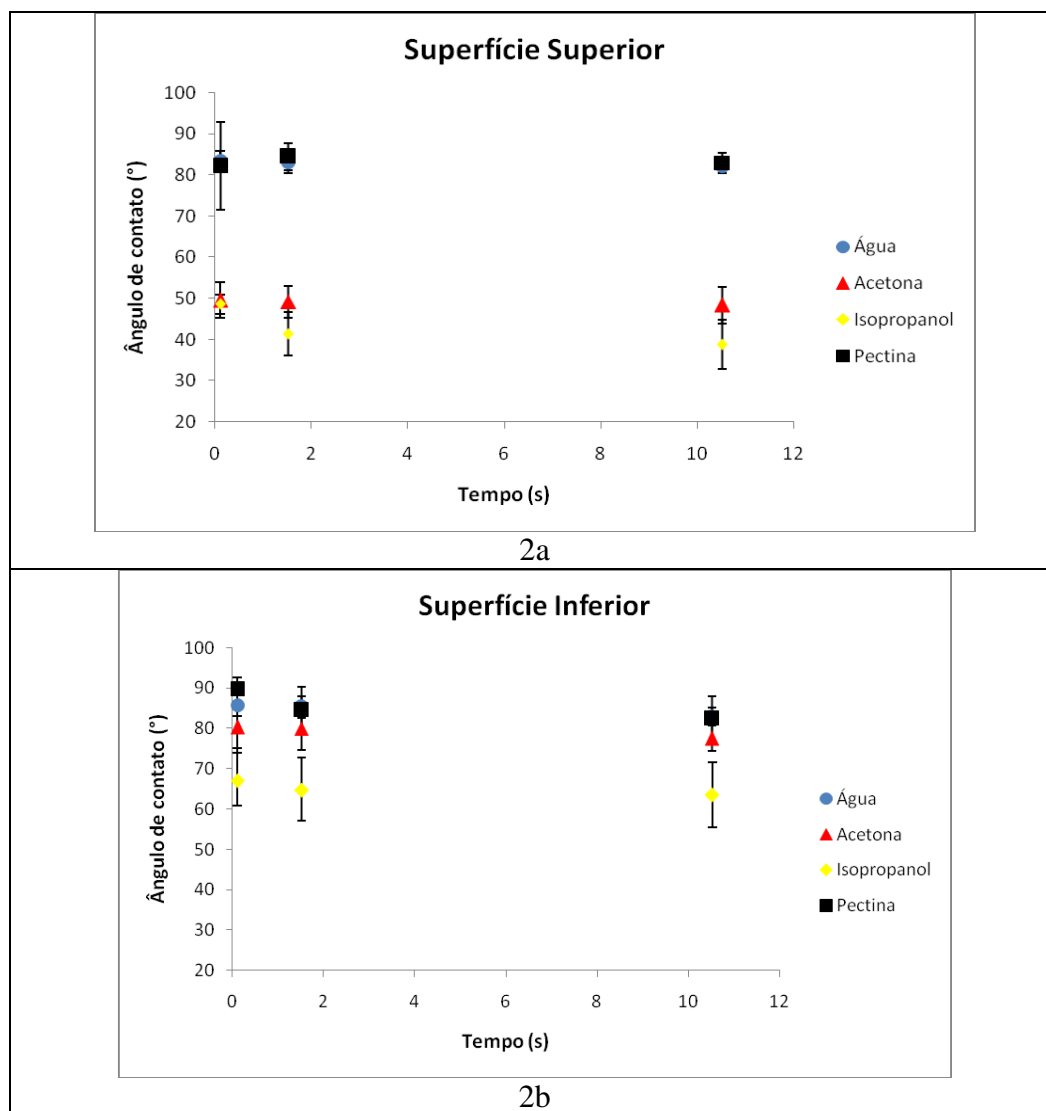


Figura 2. Resultados do ensaio de ângulo de contato para a superfície superior (2a) e inferior (2b) dos filmes de pectina pura e pectina contendo cutina.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão das propriedades mecânicas para cada filme.

Filmes	Espessura (µm)	Resistência à tração (MPa)	Módulo de Elasticidade (GPa)	Deformação de ruptura (%)
Pectina em água	120±19	37±7	1,6±0,2	3,8±2,5
Pectina e cutina em água	107±13	18±2	1,0±0,2	2,8±0,6
Pectina e cutina em acetona	135±13	14±5	0,7±0,2	2,6±0,8
Pectina e cutina em isopropanol	135±15	13±3	0,7±0,1	2,7±0,5

#### 4. Conclusões

A resistência à tração dos filmes de pectina diminuiu com a adição de cutina para todos os solventes testados. O ensaio de absorção de água indicou que a adição de cutina nos filmes de pectina aumentou a hidrofobicidade dos mesmos. Entretanto, notou-se que os solventes orgânicos interagiram de forma diferente da água da formação e no desempenho dos filmes que continham cutina precisam ser mais bem investigados, apesar disso, a produção de filmes de cutina e pectina com os solventes orgânicos estudados é uma alternativa satisfatória, o que viabiliza a utilização da enzima lipase.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa, ao MCTI/SisNANO (402287/2013-4), CNPq ((Processo: 409354/20018-0), e a Rede AgroNano.

#### Referências

- ASTM D5725-99. ASTM standard test method for surface wettability and absorbency of sheeted materials using an automated contact angle tester. West Conshohocken, PA: ASTM International, (2008).
- HEREDIA A. Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1620, p. 1-7, 2003.
- LÓPEZ-CASADO, G., MATAS, A. J., DOMÍNGUEZ, E., CUARTERO, J., HEREDIA, A. Biomechanics of isolated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit cuticles: The role of the cutin matrix and polysaccharides. *Journal of Experimental Botany*, v. 58, p. 3876-3883, 2007.
- MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 51, n. 24, p.7055-7011, 2003.
- MEHER, L.C.; SAGAR, D.V.; NAICK, S.N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 10, p. 248–268, 2006.

## AVALIAÇÃO DA MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE DO NANOCOMPÓSITO MAGNÉTICO À BASE DE ZEOLITA FAU PARA ADSORÇÃO DE CORANTE EM MEIO AQUOSO

M. R. Meirelles<sup>1,2</sup>, J. O. D. Malafatti,<sup>2,3</sup> C. R. Sciena<sup>2,3</sup>, A. M. Raba<sup>4</sup>, A. Zenatti<sup>5</sup>, M. T. Escote<sup>5</sup>, E. C. Paris<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Trab. Sancarlense, 400, 13566-590, São Carlos - SP, Brasil.

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

<sup>3</sup> Universidade Federal de São Carlos UFSCar, Rod. Washington Luiz, 13565-905, São Carlos, SP.

<sup>4</sup> Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Carretera Central del Norte, 150001, Tunja, Boyacá, Colombia, Universidad Francisco de Paula Santander, Avenida Gran Colombia, 12E-96, 540003, Cúcuta, Norte de Santander, Colombia

<sup>5</sup> Universidade Federal do ABC (UFABC), Av. dos Estados, 5001, Santo André, SP

\* Autor correspondente, e-mail: elaine.paris@embrapa.br

**Resumo:** A busca pela remediação da água contaminada é um tema de interesse mundial e o desenvolvimento adsorventes com melhor desempenho se faz necessário para resolução deste problema. A zeólita faujasita (FAU) é um aluminossilicato, com elevada área superficial e tamanho de poros definidos, que contribuem para o aumento da capacidade de adsorção. Contudo, a adsorção tem como desafio a recuperação do material adsorvente sem a adição de processos secundários. O presente trabalho teve como finalidade a obtenção de um compósito magnético de FAU:MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> com modificação superficial pelo brometo de brometo de hexadeciltrimetilamio (CTAB) para adsorção do corante alaranjado de metila. Na modificação superficial foi observado que a presença de 1% CTAB promoveu o aumento da hidrofobicidade da FAU a partir do aumento do ângulo de contato de 23° a 113°. A análise de histerese magnética verificou que as nanopartículas de MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> apresentaram valor de magnetização de saturação (Ms) igual a 5,90 emu g<sup>-1</sup>, possibilitando a atividade magnética no compósito FAU:MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, 3:1 (m/m), com valor de Ms de 0,47 emu g<sup>-1</sup>. Na adsorção do corante alaranjado de metila, o compósito constituído por FAU modificada por 1% de CTAB apresentou capacidade adsorptiva três vezes superior comparado ao sem modificação superficial.

**Palavras-chave:** Zeólita, Compósito magnético, Adsorção, Corante, Modificação superficial.

### **EVALUATION SURFACE MODIFICATION OF MAGNETIC NANOCOMPOSITE BASED ON ZEOLITE FAU FOR DYE ADSORPTION IN AN AQUEOUS MEDIUM**

**Abstract:** The search for the contaminated water remediation is a worldwide interest topic and the development of better performing adsorbents is necessary to solve this problem. Faujasite zeolite (FAU) is an aluminosilicate with high surface area and defined pore sizes, which contributes to the increase of adsorption capacity. Additionally, FAU possess a high reactivity that allows surface modification to enhance interaction with organic molecules. However, the main adsorption prosses challenge is the adsorbent material recovery without the addition of secondary processes. In this way, this work aims to obtain a FAU:MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> magnetic composite with surface modification by hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) for adsorption of orange methyl dye. In the superficial modification, it was observed that the presence of 1% CTAB promoted the increase of FAU hydrophobicity by increasing the contact angle from 23° to 113°. The magnetic hysteresis analysis verified that the MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles presented saturation magnetization value (Ms) of 5.90 emu g<sup>-1</sup>, allowing the magnetic activity in 3:1 FAU:MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> composite (w/ w), with (Ms) value of 0.47 emu g<sup>-1</sup>. In the evaluation of the methyl orange dye adsorption, the FAU composite

modified by 1% CTAB presented three times higher adsorptive capacity compared to the one without surface modification.

**Keywords:** Zeolite, Magnetic composite, Adsorption, Dyes, Modified surface.

## 1. Introdução

Um dos principais métodos de remoção de contaminantes é por meio do processo de adsorção. Dentre os fatores que influenciam o processo de adsorção, encontram-se a área superficial, a distribuição e tamanho de poros do adsorvente, a natureza química do adsorvente e do adsorbato, o tamanho do adsorbato, a temperatura utilizada, o tipo de solvente, taxa de agitação, concentração das espécies, grupos funcionais superficiais e pH (SALAME, II; BANDOSZ, T. J., 2003).

Os adsorventes mais comuns são materiais porosos, tais como, alumina, carvão ativado, argilas e zeólitas. (AHMARUZZAMAN, M., 2008). Os altos valores de área superficial das zeólitas, assim como, a regularidade nos tamanhos e distribuição de poros, capacidade de troca iônica e seletividade fazem desses materiais adsorventes de interesse. Além disso, possuem elevada capacidade de regeneração e são facilmente modificáveis (CHAOUATI, N.; SOUALAH, A.; CHATER, M., 2013).

Uma forma de melhorar a interação dos adsorventes com moléculas orgânicas é por meio da modificação superficial, visando o aumento da hidrofobicidade superficial, de modo, a promover a melhor interação com o contaminante orgânico (por meio de forças de London) (ZAPATA, P. A. *et al*, 2013)

Um dos grandes desafios no uso desses adsorventes é a imobilização adequada para que apresentem remoção e reutilização eficientes. Visando superar esta dificuldade, zeólitas magnéticas têm sido estudadas na literatura. Para isto, nanopartículas de diferentes óxidos à base de ferro tem sido introduzidas na superfície da zeólita e as propriedades magnéticas e de adsorção frente a contaminantes inorgânicos e orgânicos são avaliadas (FUNGARO, D. A.; YAMAURA, M.; GRACIANO, J. E. A., 2010). Ferritas são óxidos duplos de ferro e outro metal de fórmula geral  $MFe_2O_4$ , sendo M é um elemento metálico bivalente (geralmente,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  ou  $Cu^{2+}$ ). A estrutura cristalina mais comum é a do tipo espinélio ( $AB_2O_4$ ). Nos espinélios ferrimagnéticos, as propriedades magnéticas estão diretamente relacionadas às interações entre os íons nos sítios tetraédricos e octaédricos (NAKAGOMI, F., 2008).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo realizar a modificação da zeólita FAU com o surfactante CTAB e ancorar nanopartículas magnéticas, a fim de possibilitar a remoção de poluentes orgânicos como o corante alaranjando de metila, seguido da remoção do sistema em meio aquoso.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Síntese da Zeólita FAU

As amostras de zeólita FAU foram obtidas pelo processo sol-gel seguido por tratamento hidrotérmico. A composição molar empregada foi de estequiometria geral 9,5  $Na_2O$ : 1,0  $Al_2O_3$ : 14,0  $SiO_2$ : 288  $H_2O$  (REINOSO, Deborah; ADROVER, María; PEDERNERA, Marisa, 2018). Como fonte de  $SiO_2$  foi empregada a sílica Aerosil® 380 (Evonik Degussa), o hidróxido de sódio (Synth) foi utilizado como fonte parcial de íons  $Na^+$  e o aluminato de sódio (Sigma Aldrich) como fonte de íons  $Al^{3+}$ . Após a obtenção de um gel viscoso a partir da homogeneização dos reagentes, foi realizado o envelhecimento estático por 24 h em bancada e posteriormente o tratamento hidrotérmico 100°C por cerca de 6 horas.

### 2.2. Modificação com Surfactante Catiônico

A modificação da superfície da zeólita com o uso do surfactante catiônico foi realizada com brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) (Sigma-Aldrich). Para isto, foi adicionado zeólita em

etanol anidro (Synth) e submetido à agitação magnética por 1 h em temperatura ambiente. Posteriormente, foi variada a massa do modificador CTAB de 1 a 10% (m/m) em relação à massa de zeólita e iniciado o procedimento de refluxo em banho de óleo por 24 h. Terminado esse período, foi executada a lavagem para retirada do excesso de íons brometo da suspensão e o sólido resultante foi seco em estufa de circulação à 60°C.

### 2.3. *Compósito FAU: Ferrita*

Inicialmente foi realizado a síntese das nanopartículas magnéticas de ferrita de magnésio ( $\text{MgFe}_2\text{O}_4$ ) baseada no procedimento de Omer *et al.* (2013). Para isso foram misturadas soluções aquosas de concentração  $0,4 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Sigma Aldrich) e de  $\text{MgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Synth). Em seguida, foi adicionado  $3 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH (Synth) sob agitação constante. Após isto, a suspensão resultante foi lavada e centrifugada a 10.000 rpm por 10 minutos, até alcançar o pH próximo ao neutro. O material resultante foi seco em estufa de circulação de ar, submetido ao tratamento térmico de 500°C por 2 h. Posteriormente, 0,5 g da ferrita foi suspensa em 40 mL de água destilada. Em seguida, a de zeólita FAU foi adicionada lentamente à suspensão, de modo a alcançar uma proporção de zeólita:ferrita (m/m) igual a 3:1. A suspensão foi sonicada em ultrassom de ponteira, empregando-se 30 % de amplitude durante 30 minutos. O compósito resultante foi centrifugado e seco em estufa de circulação a 60°C.

### 2.4. *Caracterizações*

Os materiais obtidos foram caracterizados por difração de raios X (DRX) usando radiação  $\text{Cu K}\alpha$  com  $\lambda = 1,5488 \text{ \AA}$  (Shimadzu DRX 6000), operando a 30 mA e 30 kV na faixa de  $2\theta$  de 10 a 80° com varredura em etapas de 0,02° e velocidade de  $1^\circ \text{ min}^{-1}$ . As medidas magnéticas da ferrita de magnésio e do compósito foram realizadas por histerese via magnetizador óptico (PPMS) modelo PPMS 9 Evercool - Quantum Design.

### 2.5. *Ensaio de Adsorção*

Para os ensaios de adsorção foram utilizadas alíquotas de 40 mL de alaranjado de metila (Sigma Aldrich) de concentração 5 ppm, que foram adicionadas a frascos contendo massa previamente estabelecida de zeólita comercial, zeólita sintetizada e do compósito zeólita:ferrita em concentração de  $1,0 \text{ g L}^{-1}$ . Os ensaios foram realizados para as amostras sem e com modificação de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB). Os experimentos foram conduzidos sob agitação mecânica por 24 horas e posteriormente submetidos à centrifugação, empregando-se 10.000 rpm por 5 min. Os compósitos zeólita:ferrita foram removidos do meio com auxílio de um ímã de neodímio. Em seguida, alíquotas da solução sobrenadante foram analisadas através de espectrofotometria de ultravioleta-visível (UV-vis) em 269,5 nm.

## 3. Resultados e Discussão

Inicialmente foi realizado a análise do DRX para verificação e obtenção das fases puras e cristalinas dos materiais no compósito (Figura 1a). No difratograma é possível evidenciar que houve manutenção das fases ferrita de magnésio e zeólita FAU no compósito, pois os difratogramas de ambas foram conservados, apontando que o método de impregnação foi bem sucedido.

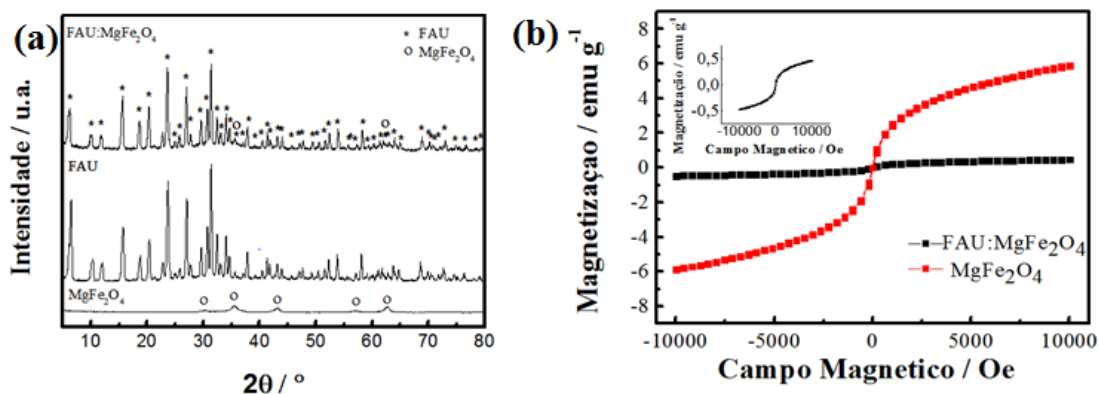


Figura 1. Resultados (a) DRX do compósito, FAU e MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>; e (b) histerese magnética para o compósito e MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

Para compreensão do comportamento magnético da ferrita de magnésio (MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) isolada e do compósito zeólita FAU:MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (3:1), foram realizadas medidas de histerese magnética que estão apresentadas na Figura 1b. Por meio dos resultados apresentados na Figura 1b, foi observado que a ferrita de magnésio apresenta uma magnetização de saturação (M<sub>s</sub>) equivalente a 5,90 emu g<sup>-1</sup>, magnetização remanente (M<sub>r</sub>) de 0,10 emu g<sup>-1</sup> e campo coercitivo (H<sub>c</sub>) de -22,47 Oe.

A fim de avaliar a hidrofobização promovida pelo CTAB na superfície da zeólita, foi realizada a caracterização por ângulo de contato. Na Figura 2 é possível observar que a presença do CTAB promoveu a hidrofobização das partículas da zeólita FAU, resultando em um aumento do valor do ângulo de contato de 27° para um máximo 113° com 1% de CTAB, após 16 s de análise.

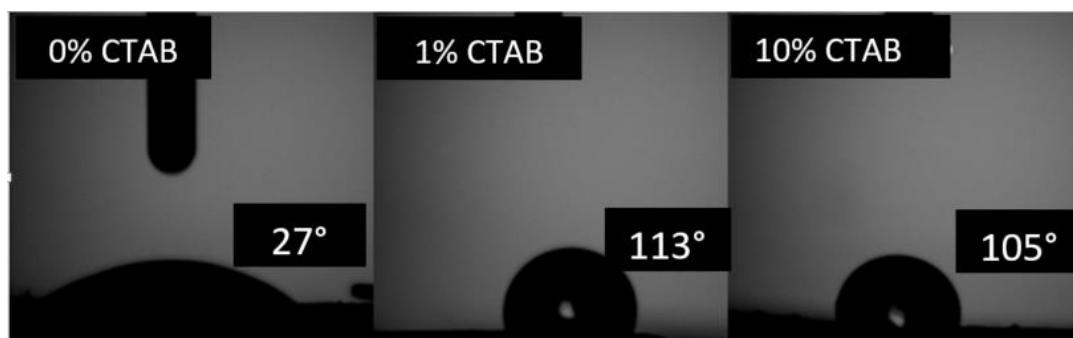


Figura 2. Imagens e valores dos ângulos de contato das amostras de zeólita FAU modificadas com 0, 1 e 10% de CTAB, após 16 s de análise.

É possível observar que com o aumento de 1 para 10% de CTAB (Figura 2) não ocorreu um aumento do valor do ângulo de contato, que passou de 113° para 105°, respectivamente. Assim, verifica-se que nas condições de modificação empregadas, a concentração de 1% de CTAB pode ser considerada a condição ótima de aplicação para a hidrofobização da zeólita FAU.

Desse modo, a partir da otimização da hidrofobização da FAU, foi realizada a obtenção do compósito magnético zeólita FAU e MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> em uma relação mássica de 3:1, com 1% de CTAB como modificador.

Nos ensaios de adsorção do composto orgânico alaranjado de metila foram avaliadas as respostas do compósito zeólita FAU:MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> sintetizada com e sem modificação, empregando 1% de CTAB. Na Tabela 1 é possível observar que o compósito sem modificação superficial por CTAB teve C<sub>ads</sub> equivalente a 0,29 mg AM g<sup>-1</sup> de adsorvente, enquanto o material modificado teve o valor equivalente à 1,03 mg AM g<sup>-1</sup> de adsorvente. Esta melhora na adsorção desse corante aniônico pode ser atribuída a hidrofobização da FAU pelo CTAB, aumentando a interação com o poluente orgânico.

Tabela 1. Capacidade adsorviva ( $C_{ads}$ ) dos compósitos perante o corante alaranjado de metila (AM)(5ppm)

Material adsorvente	$C_{ads}$ em mg de AM $g^{-1}$ de adsorvente
FAU:MgFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	0,29
FAU-1% CTAB: MgFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	1,03

#### 4. Conclusões

Portanto, a partir resultados obtidos observou-se que o compósito FAU-1%CTAB: MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> apresentou característica hidrofóbica decorrente da modificação superficial com CTAB e atividade magnética advinda das nanopartículas MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Na adsorção do corante alaranjado de metila, o compósito possibilitou a maior remoção na presença do CTAB, três vezes superior, decorrente da melhor interação superficial do adsorvente com a molécula orgânica.

#### Agradecimentos

CAPES, CNPq Processo: 461384/2014-0, Rede AgroNano e Sisnano/MCTI.

#### Referências

- AHMARUZZAMAN, M. Adsorption of phenolic compounds on low-cost adsorbents: a review. *Advances in colloid and interface science*, v. 143, n. 1, p. 48-67, 2008.
- CHAOUATI, N.; SOUALAH, A.; CHATER, M. Adsorption of phenol from aqueous solution onto zeolites Y modified by silylation. *Comptes Rendus Chimie*, v. 16, n. 3, p. 222-228, 2013.
- FUNGARO, D. A.; YAMAURA, M.; GRACIANO, J. E. A. Remoção de íons Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> e Pb<sup>2+</sup> de soluções aquosas usando compósito magnético de zeólita de cinzas de carvão. *Química Nova*, v. 33, n. 6, p. 1275-1278, 2010.
- NAKAGOMI, F. Efeitos da Distribuição da População de Cobalto e Magnésio nas Propriedades Estruturais e Magnéticas de Nanopartículas de Co<sub>x</sub>Fe<sub>(3-x)</sub>O<sub>4</sub> e Mg<sub>x</sub>Fe<sub>(3-x)</sub>O<sub>4</sub>. Dissertação de Mestrado. Instituto de Física, UNB, 130 p, 2008.
- OMER, M. I.; ELBADAWI, A.; YASSIN, O. Synthesis and Structural Properties of MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Ferrite Nanoparticles. *JAIS*, v. 1, p. 20-23, 2013.
- REINOSO, Deborah; ADROVER, María; PEDERNERA, Marisa. Green synthesis of nanocrystalline faujasite zeolite. *Ultrasonics sonochemistry*, v. 42, p. 303-309, 2018.
- SALAME, II; BANDOSZ, T. J. Role of surface chemistry in adsorption of phenol on activated carbons. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 264, n. 2, p. 307-312, 2003.
- ZAPATA, P. A. *et al.* Silylated hydrophobic zeolites with enhanced tolerance to hot liquid water. *Journal of Catalysis*, v. 308, p. 82-97, 2013.

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES NANOESTRUTURADOS PARA  
MONITORAMENTO DE GEOSMINA E 2-METILISOBORNEOL EM AMOSTRAS DE  
ÁGUA**

Fernanda L. Migliorini<sup>1,\*</sup>, Kelcilene B. R. Teodoro<sup>1</sup>, Danilo M. dos Santos<sup>1</sup>, Fernando J. Fonseca<sup>2</sup>,  
Luiz H. C. Mattoso<sup>1</sup>, Daniel S. Correa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua: XV de Novembro, 1452, São Carlos*

<sup>2</sup> *Universidade de São Paulo, Prof. Almeida Prado, 1280, São Paulo*

\* *Autor correspondente, e-mail: fernandamigliorini@yahoo.com.br*

**Resumo:** Geosmin (GSM) e Metilisoborneol (MIB) são substâncias comumente encontradas na água do rio e surgem devido ao processo de eutrofização. Tais contaminantes afetam as propriedades organolépticas da água, dificultando seu consumo e seu uso nas indústrias de bebidas. Como o limiar de percepção humana para esses compostos é baixo, os dispositivos destinados à sua detecção devem ser sensíveis o suficiente para detectar concentrações tão baixas quanto alguns nanogramas por litro, a fim de garantir os parâmetros de qualidade da água. Neste trabalho, uma língua eletrônica foi aplicada na determinação elétrica de geosmina e metilisoborneol em água pura e fluvial. Os filmes finos depositados nos eletrodos interdigitados com ouro foram baseados em poliamida 6, polipirrol e polianilina, mas fabricados por eletrospinning. O dispositivo foi capaz de discriminar a água pura de soluções contaminadas com geosmina e metilisoborneol em concentrações tão baixas quanto 25 ng.L<sup>-1</sup>, com alta correlação de dados e boa reprodutibilidade.

**Palavras-chave:** Língua eletrônica, Eletrospinning, Nanomateriais, Geosmina, 2-Metilisoborneol.

***DEVELOPMENT OF NANOSTRUCTURED SENSORS FOR MONITORING GEOSMIN AND  
2-METHYLISOBORNEOL IN WATER SAMPLES***

**Abstract:** Geosmin (GSM) and Metilisoborneol (MIB) are substances commonly found in river water and arise due to eutrophication process. Such contaminants affect the organoleptic properties of water, hampering its consumption and its use in beverage industries. As the human perception threshold for these compounds is low, the devices aimed at their detection must be sensible enough to detect concentrations as low as a few nanogram per liter in order to guarantee the water quality parameters. In this work, an electronic tongues was applied in the electrical determination of geosmin and metilisoborneol in pure and river water. The thin films deposited onto gold interdigitated electrodes were based on polyamide 6, polypyrrole and polyaniline, but fabricated by electrospinning. The device was able to discriminate pure water from solutions tainted with geosmin and metilisoborneol in concentration as low as 25 ng.L<sup>-1</sup>, with high data correlation and a good reproducibility.

**Keywords:** Electronic Tongue, Electrospinning, Nanomaterials, Geosmin, 2-Methylisoborneol.

**1. Introdução**

A qualidade da água que é distribuída à população é um dos assuntos de grande interesse hoje, pois, por se originar de rios, lagos, represas, entre outros, pode conter diferentes tipos de resíduos. Esses resíduos podem ser altamente variáveis, como sal dissolvido, microorganismo ou até contaminação por metais pesados, pesticidas, hormônios, entre outros. Quando há um aumento excessivo de nutrientes na água, pode ocorrer a proliferação de algas. Essas algas podem ser formadas a partir de cianobactérias, consideradas tóxicas, dependendo da concentração, e podem produzir compostos que dão sabor e odor repugnantes à água (BRAGA et al., 2012 and IZAGUIRRE; TAYLOR, 2004). A geosmina e 2-metilisoborneol são considerados dois desses



compostos que conferem sabor e odor de terra e mofo às águas, respectivamente, mesmo em baixas concentrações (BRAGA et al., 2012). Dessa forma, a presença desses compostos na água potável deve ser monitorada e controlada por instrumentação altamente sensível, de fácil manuseio, principalmente porque esses compostos são a principal fonte de reclamações das empresas de água e, devido ao sabor desagradável, também podem afetar as empresas de bebidas e a aquicultura. Neste contexto, aqui relatamos o desenvolvimento de um sistema de língua eletrônica composto por eletrodos modificados com nanofibras eletrofiadas de poliamida 6/polipirrol e poliamida 6/polianilina modificados com nanomateriais distintos (nanopartículas de ouro e prata) para monitorar amostras de água contaminadas por concentrações diferentes de geosmina e 2-metlisoborneol.

## 2. Materiais e Métodos

Os nanocompósitos foram produzidos a partir de combinações de poliamida 6/polipirrol e poliamida 6/polianilina modificados com nanomateriais distintos (nanopartículas de ouro (AuNp) e nanopartículas de prata (AgNp)) usando a eletrofição como técnica de processamento das nanofibras e a modificação foi realizada por imersão das nanofibras em suspensões híbridas para promover a adsorção dessas estruturas. Por meio de medidas de impedância, os dados de resistência elétrica foram tratados estatisticamente por meio da Análise de Componentes Principais (PCA), com o objetivo de avaliar a discriminação de amostras de água contaminadas com geosmina e 2-metlisoborneol.

## 3. Resultados e Discussão

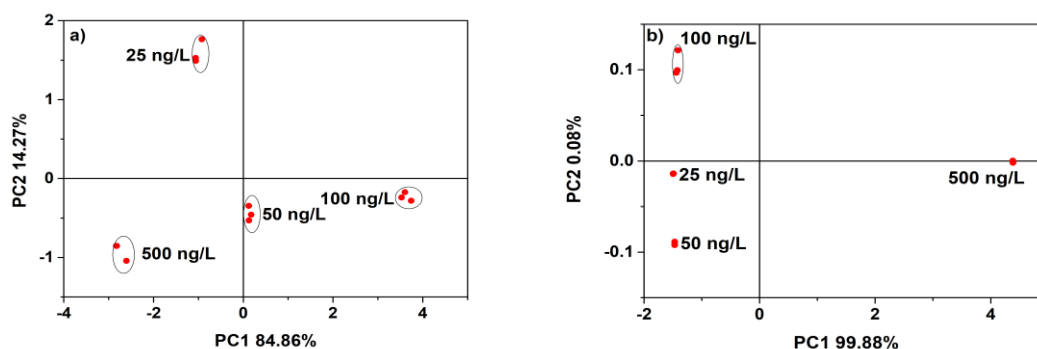


Figura 1. Gráficos PCA para os dados de resistência elétrica em 1KHz obtidos com o sistema de língua eletrônica para detecção de (a) metilisoborneol e (b) geosmina em água destilada.

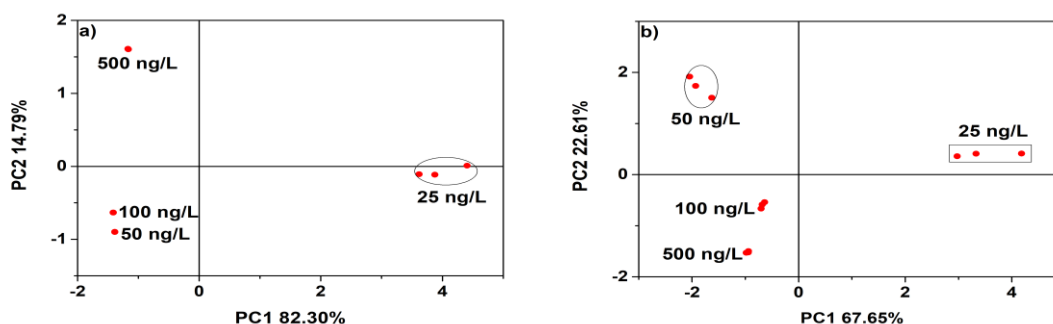


Figura 2. Gráficos PCA para os dados de resistência elétrica em 1KHz obtidos com o sistema de língua eletrônica para detecção de (a) metilisoborneol e (b) geosmina em água de rio.

Para desenvolver um sensor químico para amostras de geosmina e 2-metlisoborneol, foi utilizado um sistema de língua eletrônica, composto por 7 eletrodos interdigitados (IDEs): um IDE

simples, um IDE modificado com poliamida 6/polipirrol, um IDE modificado com poliamida 6/polipirrol/NpAg, um IDE modificado com poliamida 6/polipirrol/NpAu, um IDE modificado com poliamida 6/polianilina, um IDE modificado com poliamida 6/polianilina/NpAg e um IDE modificado com poliamida 6/polianilina/NpAu. Na Figura 1 (a), temos o PCA para este conjunto de sensores para as diferentes concentrações de geosmina e 2-metilisoborneol coletadas usando os dados de capacidade elétrica a 1kHz. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados mostraram que o sistema desenvolvido pode discriminar facilmente as amostras de águas contaminadas com diferentes concentrações dos contaminantes. A soma das componentes principais (PC1 + PC2) resultou em uma variação de 99,13% e 99,96 para 2-metilisoborneol e a geosmina respectivamente, sendo que a variação foi dominada pelo PC1. Além disso, para avaliar a aplicabilidade do nosso sistema de língua eletrônica para análises ambientais reais, também foram preparadas soluções com amostras de água do rio contendo diferentes concentrações dos contaminantes. A amostra de água do rio foi coletada no rio Monjolinho (localizado em São Carlos - São Paulo / Brasil) e filtrada usando um filtro de papel (J Prolab JP42). O PCA exibido na Figura 2 mostra que a língua eletrônica é muito eficaz em discriminar as diferentes concentrações de geosmina e 2-metilisoborneol mesmo em amostras reais, produzindo novamente uma separação muito clara.

#### 4. Conclusões

Em resumo, uma plataforma à base de nanofibras eletrofiadas de poliamida 6/polipirrol e poliamida 6/polianilina modificadas com nanomateriais distintos (nanopartículas de ouro (AuNp) e nanopartículas de prata (AgNp)) foi desenvolvida com sucesso utilizando microeletrodos interdigitados de ouro, com o objetivo de detectar geosmina e 2-metilisoborneol em água, a partir de um sistema de língua eletrônica. O sistema desenvolvido discriminou facilmente esses contaminantes, mesmo em concentrações baixas com alta reprodutibilidade, independentemente das amostras terem sido preparadas com água destilada ou água fluvial.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (2014/21184-5, 2017/12174-4, 2017/20973-4 e 2018/09414-6), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/PQ 303.796/2014-6, CNPq/402.287/2013-4), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) e a EMBRAPA. Os autores também agradecem a Angelo L. Gobbi e Maria H. O. Piazzetta por sua assistência no laboratório de microfabricação (LMF / LNNano-LNLS).

#### Referências

- BRAGA, G.S.; PATERNO, L.G., FONSECA, F.J. Performance of an electronic tongue during monitoring 2-methylisoborneol and geosmin in water samples. *Sensors and Actuators B: Chemical*, p. 181–189, 2012.
- IZAGUIRRE, G.; TAYLOR, W.D. A guide to geosmin and MIB producing cyanobacteria in a Mediterranean rive. *Water Sci. Technol.*, p. 19-24, 2004.

**PRODUÇÃO DE NANOCELULOSE VIA ROTAS ÁCIDA E ENZIMÁTICA**

M. V. Oliveira<sup>1</sup>, S. Bilatto<sup>2,\*</sup>, P. Squinca<sup>2</sup>, C. S. Farinas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Genética e Evolução – UFSCar, Rod. Washington Luis, km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, SP, mavilimaoliveira@gmail.com

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, nº 1.452, CEP: 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: stanleyebr@gmail.com

**Resumo:** A nanocelulose é um material de alto valor agregado que pode ser obtido a partir da hidrólise de biomassa lignocelulósica. Neste trabalho são apresentadas duas frentes de pesquisa desenvolvidas pelo Laboratório de Agroenergia da Embrapa Instrumentação – São Carlos, abordando a hidrólise ácida e a hidrólise enzimática utilizando biomassas lignocelulósicas.

**Palavras-chave:** nanocelulose, hidrólise enzimática, hidrólise ácida, biorefinaria.

**NANOCELLULOSE PRODUCTION BY ACID AND ENZYMATIC ROUTES**

**Abstract:** Nanocellulose is a high aggregated value material obtained by lignocellulosic biomass hydrolysis. In this paper, it is presented two research topics developed at Agroenergy Laboratory, in Embrapa Instrumentation – São Carlos, as acid hydrolysis and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass.

**Key words:** nanocellulose, enzymatic hydrolysis, acid hydrolysis, biorefinery

**1. Introdução**

O bioetanol, obtido através da fermentação de materiais orgânicos como a cana-de-açúcar, apresenta-se como uma interessante alternativa sustentável de combustível já que é produzido a partir de recursos renováveis, apesar de ainda oferecer certa desvantagem econômica em relação a processos não renováveis. Esse cenário, entretanto, pode ser revertido através da produção de materiais de valor agregado associados à produção de bioetanol, como a nanocelulose (NC).

A nanocelulose é um material de alta área superficial, hidrofiliabilidade e alta cristalinidade que possui diversas aplicações, como biofilme, hidrogel, uso em implantes, papéis, entre outros; podendo ser obtida através da hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar (BC), um resíduo da produção de bioetanol (KUMAR et al., 2014; LAM et al., 2012). Tal hidrólise pode ser realizada a partir de diversas vias que, de maneira comum, visam a conversão de carboidratos complexos a monômeros simples, liberando o polímero de celulose cristalino.

Diversos materiais são utilizados para a obtenção de nanocelulose, variando em sua concentração de celulose, hemicelulose e lignina, como o bagaço de cana-de-açúcar (aproximadamente 22% de lignina e 45% de celulose), algodão (26% de lignina e 50% de celulose) (SHARMA et al., 2019) e polpa de eucalipto (5% de lignina e 69% de celulose) (WANG et al., 2017).

Entre as diferentes vias de hidrólise utilizadas, a mais conhecida é a partir do uso de ácido sulfúrico, utilizando-se de condições de temperatura, tempo de hidrólise e agitação controlados. A hidrólise por ácido sulfúrico permite remoção seletiva do material amorfo e funcionalização dos nanocristais com grupamentos sulfato, que concedem aos cristais de nanocelulose (CNC) carga negativa e, conseqüentemente, aumentam sua estabilidade em suspensões aquosas. Entretanto, algumas desvantagens de tal processo são a grande corrosividade do reagente e sua incompatibilidade ambiental. Outros ácidos também costumam ser utilizados, entre eles o ácido fosfórico e hidrocloreídrico, concedendo diferentes propriedades aos CNCs produzidos (BRINCHI et al., 2013).

Já a hidrólise enzimática permite a produção de nanocristais de celulose sem a necessidade de reagentes químicos abrasivos aos reatores ou ao meio ambiente (TRACHE et al., 2017). Esta via se baseia na utilização de enzimas de efeito sinérgico, como celulasas, endoglucanases e celobiohidrolases, capazes de quebrar as ligações de hidrogênio entre microfibras de celulose. Entretanto, como desvantagem, pode-se citar o longo tempo de hidrólise e a alta sensibilidade enzimática às condições de reação e a compostos como a lignina, a qual se liga de maneira não produtiva (SHARMA et al., 2019).

Visando diminuir interferentes da hidrólise, além de reduzir o efeito recalcitrante das biomassas lignocelulósicas, faz-se necessário um pré-tratamento do material a ser utilizado. Entre eles, o pré-tratamento alcalino se baseia na adição de hidróxido de cálcio à biomassa, possuindo como vantagens seu baixo custo, segurança, baixa severidade e aumento da digestibilidade do material (SUN et al., 2016). Já o tratamento ozonolítico constitui na oxidação seletiva de lignina a partir do gás ozônio, apresentando alta eficiência e mínima produção de inibidores hidrolíticos (TRAVAINI et al., 2013).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Pré-tratamento e hidrólise ácida

Para preparação do material a ser utilizado, foi utilizado uma combinação de pré-tratamentos, visando remoção seletiva e eficiente de interferentes do processo. Bagaço de cana-de-açúcar foi gentilmente fornecido pelo Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR/CNPEM). Posteriormente, foi realizado o tratamento alcalino (AC) com  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  seguido por ozonólise de 90 minutos.

A hidrólise ácida então prosseguiu com a utilização de ácido sulfúrico, na proporção de 20:1 de biomassa (m/m), em agitação constante. Os nanocristais de celulose foram neutralizados e purificados a partir de centrifugação com troca constante de água e diálise. Posteriormente, o material resultante passou por sonicação em banho de gelo, por 10 minutos.

### 2.2 Hidrólise enzimática

Para a hidrólise enzimática, foi utilizada polpa branqueada de eucalipto (PBE) e enzimas celulolíticas produzidas a partir de *Aspergillus niger* cultivado sob fermentação sólida.

Após processamento das fibras de PBE em moinho de bolas, a hidrólise enzimática prosseguiu utilizando-se o coquetel enzimático não-comercial durante 96h, sendo realizada posteriormente sonicação de parte do material resultante.

### 2.3 Caracterização

Os ensaios de quantificação de constituintes (porcentagem de celulose, hemicelulose e lignina) de cada amostra foram baseados nos protocolos descritos em “Procedimentos para análise lignocelulósica, 2010” da EMBRAPA.

Diferentes ensaios físico-químicos foram realizados visando compreensão das mudanças nas propriedades químicas e estruturais de cada material diante dos diferentes tratamentos e condições de hidrólise. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para análise das fibras *in natura* e pré-tratadas, já o material nanocelulósico foi caracterizado a partir de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG).

## 3. Resultados e discussão

A combinação dos pré-tratamentos alcalino e ozonolítico permitiu uma alta retirada de extrativos (porcentagem final no material de 2,85%) e elevada eficiência de deslignificação (63%), que, juntamente aos ensaios de caracterização realizados, demonstraram grande desbastamento físico da fibra (Figura 1), além da retirada de lignina em níveis satisfatórios, aumentando o rendimento da etapa seguinte. Na hidrólise ácida foi possível produção eficaz de cristais de nanocelulose com altos índices de cristalinidade, apesar de menor estabilidade térmica devido aos grupamentos sulfato encontrados em sua superfície.

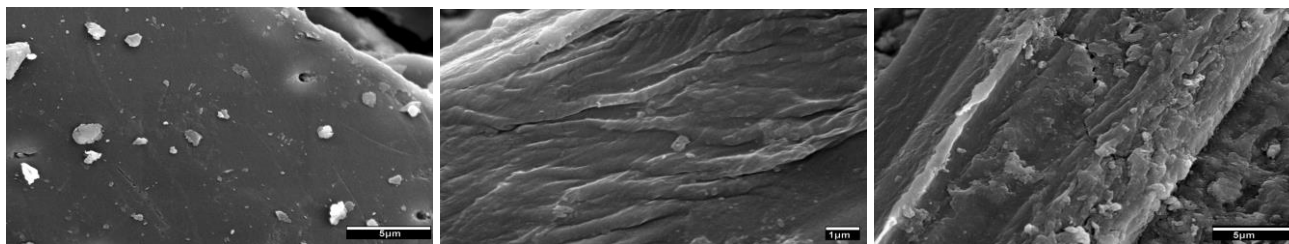


Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) do bagaço de cana-de-açúcar, a 5000x de aumento, nas condições 1 - sem tratamento, 2 – pré-tratado com  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  e 3 – pré-tratado com  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  seguido por ozonólise.

Além disso, verificou-se a produção com êxito de material nanocelulósico a partir da via enzimática, utilizando coquetel não-comercial de enzimas produzidas *on-site* (Figura 2):

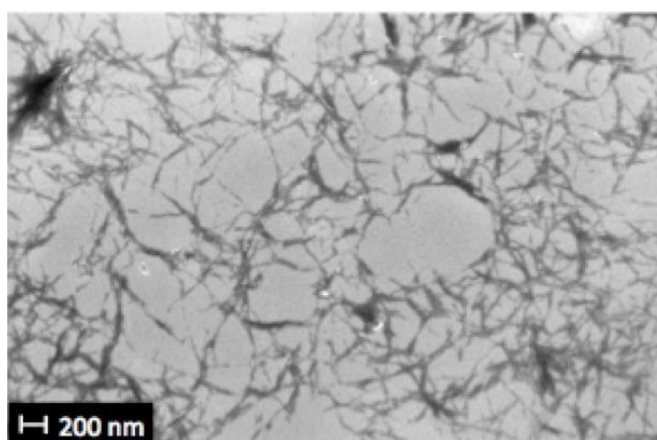


Figura 2. MEV-FEG de nanocelulose obtida a partir de hidrólise enzimática de polpa branqueada de eucalipto.

#### 4. Conclusões

Apresentou-se a capacidade de produção de nanocelulose a partir das duas vias testadas. Na hidrólise ácida, a realização de pré-tratamento se mostrou necessária, sendo a combinação dos pré-tratamentos alcalino e ozonolítico efetiva no desbastamento físico da fibra, além de produzir níveis de deslignificação satisfatórios, desse modo gerando material ideal para a produção de nanocelulose com altos índices de cristalinidade.

Para a hidrólise enzimática, a produção *on site* de enzimas hidrolíticas se mostrou uma boa alternativa para produção de nanocelulose de alta qualidade. Ambos os trabalhos apresentam estratégias promissoras para produção deste material em biorrefinarias.

#### Agradecimentos

FAPESP (Processos 2018/10899-4 e 2016/10636-8), Embrapa Instrumentação, CNPq, SisNANO/MCTI e Rede AgroNano.

#### Referências

- BRINCHI, L.; COTANA, F.; FORTUNATI, E.; KENNY, J. Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: Technology and applications. *Carbohydrate Polymers*, v. 94, n. 1, p. 154 – 169, 2013.
- KUMAR, A.; SINGH NEGI, Y.; CHOUDHARY, V.; KANT BHARDWAJ, N. Characterization of Cellulose Nanocrystals Produced by Acid-Hydrolysis from Sugarcane Bagasse as Agro-Waste. *Journal of Materials Physics and Chemistry*, v. 2, n. 1, p. 8, 2014.

- LAM, E.; MALE, K.; CHONG, J.; LEUNG, A.; LUONG, J. Applications of functionalized and nanoparticle-modified nanocrystalline cellulose. *Trends in Biotechnology*, v. 30, n. 5, p. 283-290, 2012.
- SHARMA, A.; THAKUR, M.; BHATTACHARYA, M.; MANDAL, T.; GOSWAMIS; Commercial application of cellulose nano-composites – A review. *Biotechnology Reports*, v. 21, p. e00316, 2019.
- SUN, S.; SUN, S.; CAO, X.; SUN, R. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. *Bioresource Technology*, v. 199, p. 49 – 48, 2016.
- TRACHE, D.; HUSSIN, M.; HAAFIZ, M.; THAKUR, V. Recent progress in cellulose nanocrystals: sources and production. *Nanoscale*, v. 9, n. 5, p. 1763-1786, 2017.
- TRAVAINI, R.; OTERO, M.; COCA, M.; DA-SILVA, R.; BOLADO, S. Sugarcane bagasse ozonolysis pretreatment: Effect on enzymatic digestibility and inhibitory compound formation. *Bioresource Technology*, v. 133, p. 332-339, 2013.
- WANG, Y.; WEI, X.; LI, J. et al. Homogeneous isolation of nanocellulose from eucalyptus pulp by high pressure homogenization. *Industrial Crops and Products*, v. 104, p. 237 – 241, 2017.

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO ORGÂNICA DE  
POLUENTES DE MATERIAIS HETEROESTRUTURADOS À BASE DE  $\text{CuWO}_4$** A. M. Raba P.<sup>1,2,\*</sup>, J. Malafatti<sup>3,4</sup>, C. A. Parra<sup>1</sup>, M. R. Joya<sup>5</sup>, E. C. Paris<sup>4</sup><sup>1</sup> *Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Carretera Central del Norte, 150001, Tunja, Boyacá, Colombia*<sup>2</sup> *Universidad Francisco de Paula Santander, Avenida Gran Colombia, 12E-96, 540003, Cúcuta, Norte de Santander, Colombia*<sup>3</sup> *Universidade Federal de São Carlos UFSCar, Rod. Washington Luiz, 13565-905, São Carlos, SP*<sup>4</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP*<sup>5</sup> *Universidad Nacional de Colombia, Ciudadela Universitaria, 111321, Bogotá, Cundinamarca*\* *Autor correspondente, e-mail: angelamercedesrp@ufps.edu.co.*

**Resumo:** O  $\text{CuWO}_4$  foi sintetizado pelo método hidrotérmico com o objetivo de estudar a possível formação do sistema heteroestruturado  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$ . A análise do padrão de DRX dos materiais obtidos revela a formação de  $\text{CuWO}_4$  como fase principal e  $\text{Cu}_2\text{WO}_4$  como fase minoritária. Uma modificação no pH antes do processo hidrotérmico leva à formação de óxido de tungstênio não estequiométrico. Através da comparação com outra heteroestrutura  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  obtida anteriormente, esperamos verificar as propriedades fotocatalíticas dos materiais obtidos neste trabalho.

**Palavras-chave:**  $\text{CuWO}_4$ , Hidrotérmica, Caracterização, Heteroestrutura, Fotocatálise.

***SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF POLLUTANTS ORGANIC  
DEGRADATION OF HETEROSTRUCTURED MATERIALS BASED ON  $\text{CuWO}_4$*** 

**Abstract:**  $\text{CuWO}_4$  was synthesized by hydrothermal method with the purpose to study the formation possible of  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  heterostructured system. XRD pattern analysis of materials obtained reveals the formation of  $\text{CuWO}_4$  like a principal phase and  $\text{Cu}_2\text{WO}_4$  like minority phase. A modification on the pH before hydrothermal process leads to the formation of non-stoichiometric tungsten oxide. Through the comparison with another  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  heterostructure previously obtained, we hope to check the photocatalytic properties of the obtained materials in this work.

**Keywords:**  $\text{CuWO}_4$ , Hydrothermal, Characterization, Heterostructure, Photocatalysis.

**1. Introduction**

Cooper tungstate ( $\text{CuWO}_4$ ) is a ternary oxide semiconductor that crystallize in a triclinic structure at room temperature.  $\text{CuWO}_4$  has two molecular formula units per unit cell ( $Z = 2$ ) at high and low-pressure (SOUZA et al., 2017). This oxide has considerable attention due to interesting technological properties such as ionic conductivity (MATHEW et al., 1992) and photoluminescence (SCHMITT et al., 2011). In particular, its electronic properties enable it to photocatalytic degradation of organic dyes (MONTINI et al., 2010) (CHEN et al., 2015) (DUTTA et al., 2015) and visible and solar-assisted water splitting (GAILLARD et al., 2013), among other environmental applications of semiconductors. With respect to the preparation, different synthesis methods have been used to obtain  $\text{CuWO}_4$  such as co-precipitation (GARCÍA et al., 2012) (CHEN et al., 2014), sol-gel (DAMIÁN et al., 2003), hydrothermal (MA et al., 2014) and sonochemistry (SOUZA et al., 2017) (DUTTA et al., 2015) method.

Heterostructure is a material with distinct crystalline phase in one particle and sharing at least one surface in a coherent manner. The charge migration between interconnected phases occurs and because the Fermi levels may be equals at the semiconductor's interface, the charge separation

in the phases will occur when the system is stimulated (ALVES de CASTRO et al., 2015). Coupling  $\text{CuWO}_4$  with other semiconductors has shown better performance photocatalytic of oxide due to that this configuration results an effective way to reduce the charge recombination (CHEN et al., 2014) (CHEN et al., 2015). Type-I ( $\text{CuWO}_4/\text{WO}_3 \cdot 0.33\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuWO}_4/\text{WO}_3$ ) and type-II ( $\text{CuWO}_4/\text{Cu}_2\text{O}$ ,  $\text{CuWO}_4/\text{Cu}_2\text{O}/\text{CuO}$ ,  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$ ) heterojunction were obtained as function of pH (KANNAN et al., 2017). These nanocomposites exhibited the enhanced visible light absorption and the band gap (1.7 eV) of  $\text{CuWO}_4$  is smaller than the early reported value (2.1-2.3 eV). As to photocatalytic degradation, the  $\text{CuWO}_4/\text{Cu}_2\text{O}/\text{CuO}$  and  $\text{CuWO}_4/\text{WO}_3 \cdot 0.33\text{H}_2\text{O}$  were showed 1.66 fold times higher and nearly equal apparent rate constant respectively than that of  $\text{CuWO}_4$ . The surface modification of  $\text{CuWO}_4$  with 1.8 wt% of CuO can increase the activity by approximately 9 times under UV light and by 5 times under visible light, for phenol degradation in aerated aqueous suspension (CHEN et al., 2014). In this work also was demonstrated through a (photo) electrochemical method, the processes of the electron transfer from CuO to  $\text{CuWO}_4$  and the hole transfer from  $\text{CuWO}_4$  to CuO, so that the efficiency of charge separation is improved, and organic degradation is accelerated.

These previous works have reported that  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  system improves the response photocatalytic both of  $\text{CuWO}_4$  because the recombination of the photogenerated charge carriers can be reduced which is a process desirable to optimize the photocatalytic performance under light solar. Thus, in this work we report the hydrothermal synthesis of  $\text{CuWO}_4$  with the purpose to study the formation possible of  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  heterostructured system. The solids obtained will be characterized with XRD, DRS, SEM, EDS, IR and Raman spectroscopy. Their photocatalytic response for organic degradation in water will be measured under UV light.

## 2. Materials and Methods

$\text{CuWO}_4$ -1) was prepared by using a hydrothermal method modifying the process reported in Chen (2014). 2.416 g of cooper (II) nitrate 3-hydrate ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) were dissolved in 200 mL of distilled water and the solution pH was adjusted to 5.0 with NaOH aqueous solution dropwise, followed by heating to 60°C. 3.2985 g of sodium tungstate dihydrate ( $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) were dissolved in 50 mL of distilled water and right away added to solution of cooper. Immediately after the solution was heated to 90°C during 1 h. After cooling until room temperature aqueous NaOH and aqueous  $\text{HNO}_3$  was added drop by drop until pH was adjusted to 5.0. The precipitated was transferred into a stainless autoclave, and heated at 180°C for 24 h. After the reactor cooled down the particles were collected by centrifuge, washed with water, rinsed with ethanol and dried at 60°C for 18 h. Finally, the sample was sintered in air at 500°C for 2 h.

For obtaining  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  heterostructures, an appropriate amount of a solution containing  $\text{CuWO}_4$  and Cu complex will be prepared. In order to prepare Cu complex, a specific amount of cooper (II) Nitrate 3-hydrate will be dissolved in distilled water. PEG400 will be poured in the cooper aqueous solution and after that PEG400 is uniformly dispersed, NaOH pellets will be put into the above solution. After 30 min stirring, a solution containing  $\text{CuWO}_4$  and an appropriate amount of Cu complex will be prepared in order to study three different molar ratios of  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$ , 0:1, 1:1, 2:1. Subsequently, the suspension obtained will be transferred to an autoclave, at 80°C for 12 h. After cooling to room temperature, the formed precipitates will be washed with water and dried in air at 60°C for 24 h.

The determination of the present phases was realized by X-ray Diffraction (XRD) through Shimadzu XRD 6000;  $\text{CuK}\alpha$  radiation with  $\lambda = 1,5488 \text{ \AA}$  was used. The  $2\theta$  angle range was 10-80°, with a step of 1.0°/min. Additionally, it is hoped to characterize the samples obtained through Diffuse Reflectance Spectroscopy (DRS), Scanning Electronic Microcopy (SEM), Energy Dispersive Spectroscopy (EDS), Infrared (IR) and Raman spectroscopy. Experiments of pollutants organic degradation in water under visible light will be carried out.



### 3. Results and Discussion

XRD pattern of the  $\text{CuWO}_4$ (-1) bulk material is shown in Figure 1. This pattern shows the characteristic peaks of  $\text{CuWO}_4$  phase (JCPDF No. 01-070-1732) and other minority peak indexed too, associated to  $\text{Cu}_2\text{WO}_4$  phase. It is hoped to obtain the  $\text{CuWO}_4$  phase with the purpose to study the formation possible of  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  heterostructured system.

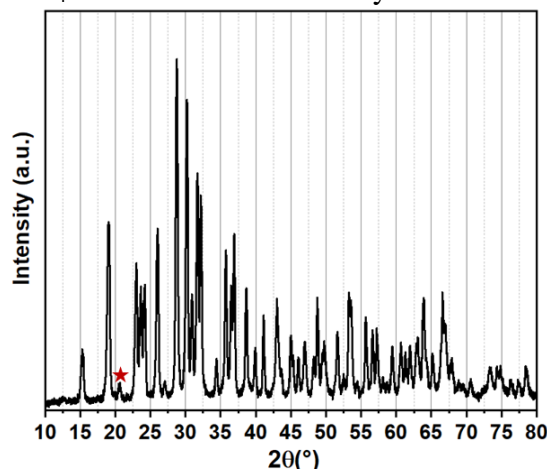


Figure 1. XRD of  $\text{CuWO}_4$ (-1) sample. Peak corresponding to other phase had been indicated.

Since the synthesis process we identified that if the solution was not heated to  $90^\circ\text{C}$   $\text{WO}_3$  phase will be formed. Similarly, to bring the pH at 6, after cooling until room temperature, promotes the formation of non-stoichiometric tungsten oxide.

We hope compare the properties of  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  heterostructured system with the properties of  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  heterostructure obtained through a simple sol-gel method, since ammonium paratungstate and annealing at  $300^\circ\text{C}$ . XRD pattern of this heterostructure allowed identify the  $\text{CuO}$  and  $\text{CuWO}_4$  crystalline phases. IR analysis showed the vibrational bands of the  $\text{CuO}$  and  $\text{CuWO}_4$  phases. In FE-SEM images, well-defined polyhedral ( $\text{CuWO}_4$ ) coverage with agglomerates of nanoparticles ( $\text{CuO}$ ) are distinguished, indicating the heterostructure was obtained (Figure 2). Two indirect gap values were obtained: 1.35 eV for  $\text{CuO}$  and 2.11 eV for  $\text{CuWO}_4$ . All these results show that  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  heterostructure was obtained and their properties make it a promising candidate for testing of photocatalytic degradation, which was confirmed by a single Rhodamine-B degradation experiment.

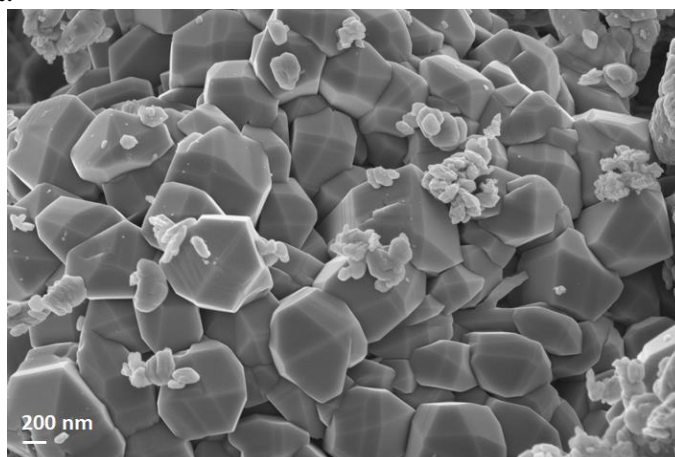


Figure 2. FE-SEM image  $\text{CuO}/\text{CuWO}_4$  heterostructure.

### 4. Conclusions

XRD pattern of the  $\text{CuWO}_4$ (-1) bulk material showed the characteristic peaks of  $\text{CuWO}_4$  phase and one minority peak associated to  $\text{Cu}_2\text{WO}_4$  phase.  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  heterostructure was obtained through a simple sol-gel method like a sample comparison. This material is the base of this

study, because will allow us to compare the structural, morphological and optical properties of the  $\text{CuWO}_4/\text{CuO}$  heterostructured system with the properties of that heterostructure obtained previously.

### Acknowledgment

We acknowledge the financial support from COLCIENCIAS (757 - 2016), Universidad Francisco de Paula Santander and EMBRAPA Instrumentação. We acknowledge the scientific contributions from GFM of Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, GIMAPOL of Universidad Francisco de Paula Santander, Universidad Nacional de Colombia and EMBRAPA Instrumentação.

### References

- ALVES de CASTRO, I.; ARIANE de OLIVEIRA, J.; PARIS, E. C.; GIRALDI, T. G.; RIBEIRO, C. Production of heterostructured  $\text{TiO}_2/\text{WO}_3$  nanoparticulated photocatalysts through a simple one pot method. *Ceramics International*, v. 41, p. 3502-3510, 2015.
- CHEN, H.; LENG, W.; XU, Y. Enhanced visible-light photoactivity of  $\text{CuWO}_4$  through a surface-deposited  $\text{CuO}$ . *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 118, p. 9982-9989, 2014.
- CHEN, H.; XU, Y. Photocatalytic organic degradation over W-rich and Cu-rich  $\text{CuWO}_4$  under UV and visible light. *RSC Advances*, v. 5, p. 8108-8113, 2015.
- DAMIÁN, M. A.; RODRIGUEZ, Y.; SOLISA, J. L.; ESTRADA, W. Characterization and butanol/etanol sensing properties of mixed tungsten oxide and cooper tungstate films obtained by spray-sol-gel. *Thin Solid Films*, v. 444, p. 104-110, 2003.
- DUTTA, D. P.; RATHORE, A.; BALLAL, A.; TYAGI, A. K. Selective sorption and subsequent photocatalytic degradation of cationic dyes by sonochemically synthesized nano  $\text{CuWO}_4$  and  $\text{Cu}_3\text{Mo}_2\text{O}_9$ . *RSC Advances*, v. 5, p. 94866-94878, 2015.
- GAILLARD, N.; CHANG, Y.; ANGELIS, A. De; HIGGINS, S.; BRAUN, A. A nanocomposite photoelectrode made of 2.2 eV band gap cooper tungstate ( $\text{CuWO}_4$ ) and multi-wall carbon nanotubes for solar-assisted water splitting. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 38, p. 3166-3176, 2013.
- GARCÍA-PÉREZ, U. M.; MARTÍNEZ de la CRUZ, A.; PERAL, J. Transition metal tungstates synthesized by co-precipitation method: Basic photocatalytic properties. *Electrochimica Acta*, v. 81, p. 227-232, 2012.
- KANNAN, S.; MOHANRAJ, K. Preparation of bifunctional  $\text{CuWO}_4$ -based heterostructure nanocomposites for noble-metal-free photocatalysts. *Chemistry Select*, v. 2, p. 4484-4498, 2017.
- MA, D.; XIE, J.; LI, J.; LIU, S.; WANG, F.; ZHANG, H.; WANG, W.; WANG, A.; SUN, H. Synthesis and hydrogen reduction of nano-sized cooper tungstate powders produced by a hydrothermal method. *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials*, v. 46, p. 152-158, 2014.
- MATHEW, T.; BATRA, N. M.; ARORA, S. K. Electrical conduction in  $\text{CuWO}_4$  crystals. *Journal of Materials Science*, v. 27, p. 4003-4008, 1992.
- MONTINI, T.; GOMBAC, V.; HAMMED, A.; FELISARI, L.; ADAMI, G.; FORNASEIRO, P. Synthesis, characterization and photocatalytic performance of transition metal tungstates. *Chemical Physics Letters*, v. 498, p. 113-119, 2010.
- SCHMITT, P.; BREM, N.; SCHUNK, S.; FELDMANN, C. Polyol-Mediated Synthesis and Properties of Nanoscale Molybdates/Tungstates: Color, Luminescence, Catalysis. *Advanced Functional Materials*, v. 21, p. 3037-3046, 2011.
- SOUZA, E. L. S.; SCZANCOSKI, J. C.; NOGUEIRA, I. C.; ALMEIDA, M. A. P.; ORLANDI, M. O.; LI, M. S.; LUZ, R. A. S.; FILHO, M. G. R.; LONGO, E.; CALVANTE, L. S. Structural evolution, growth mechanism and photoluminescence properties of  $\text{CuWO}_4$  nanocrystals. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 38, p. 256-270, 2017.

**BIOMASSA FÚNGICA COMO BIOADSORVENTE PARA A REMOÇÃO DE COMPOSTOS INIBIDORES DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DO ETANOL 2G**M. B. M. Ribeiro<sup>1,2,\*</sup>, C. S. Farinas<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luiz, km 235, 13565-905, São Carlos, SP, Brasil

\* Autor correspondente, e-mail: marinabmaluf@gmail.com

**Resumo:** No processamento da biomassa lignocelulósica em biorrefinarias podem ser gerados compostos que atuam como inibidores das etapas subsequentes. Dentre os inibidores, os compostos fenólicos originados da degradação da lignina podem inibir ou desativar as enzimas durante a reação de hidrólise, impactando o rendimento global do processo. Dessa forma, novas estratégias que contribuam para diminuir o impacto negativo destes inibidores se fazem necessárias para viabilizar as futuras biorrefinarias. Neste contexto, uma potencial estratégia é o uso de biomassa microbiana como um bioadsorvente de baixo custo para a remoção dos compostos fenólicos gerados na etapa de pré-tratamento, o qual é o objetivo deste trabalho. O cultivo do fungo foi feito a fim de obter a biomassa microbiana e três tipos de biomassa de *A. niger* pré-tratadas e moídas foram utilizadas como bioadsorventes. Testes preliminares com amostras sintéticas de vanilina (monômero) e ácido tânico (oligômero) mostraram uma remoção de 90% de ácido tânico para a biomassa tratada com solução básica, enquanto que para a vanilina a afinidade foi menor, com uma remoção de 23%. Ainda assim, a biomassa microbiana demonstrou um grande potencial para remoção de inibidores presentes no licor do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar.

**Palavras-chave:** Bioadsorção, Compostos fenólicos, *Aspergillus niger*, Biorrefinaria.

**FUNGAL BIOMASS AS BIOSORBENT TO REMOVE INHIBITORS OF THE ETHANOL 2G PRODUCTION PROCESS**

**Abstract:** The pretreatment process of lignocellulosic biomass in biorefineries can release compounds that act as inhibitors of the further steps. Among the inhibitors, the phenolic compounds originated from lignin degradation can inhibit the enzymes during the hydrolysis reaction, impacting the overall yield of the process. Therefore, new strategies that contribute to mitigate the negative effect of these inhibitors are necessary to enable the viability of future biorefineries. In this context, a potential strategy is the use of microbial biomass as a low-cost biosorbent for the removal of the phenolic compounds generated in the pretreatment stage, which is the aim of this work. The *Aspergillus niger* cultivation was made to obtain the microbial biomass and three types of treatments were used to prepare the biosorbent for phenolic compounds removal. Preliminary adsorption results with synthetic samples of vanillin and tanic acid showed a 90% removal of tanic acid by the biomass treated with basic solution while the affinity was lower for vanillin, with a removal of up to 23%. These positive findings towards biosorption of phenolics compounds suggests that the fungal biomass can be a good alternative for the removal of the inhibitors present in the pretreatment liquor of the sugarcane bagasse.

**Keywords:** Biosorption, Phenolic compounds, *Aspergillus niger*, Biorefinery.

**1. Introdução**

O rápido crescimento da população humana e o conseqüente crescimento da demanda por alimentos, energia e água são e irão continuar sendo grandes desafios para o mundo nas próximas décadas. Nesse contexto desafiador, as biorrefinarias tem o potencial de suprir boa parte dessa demanda de energia e insumos para diversos setores industriais de forma ambientalmente sustentável (CHANDEL et al., 2018).

No processamento da biomassa vegetal lignocelulósica nas biorrefinarias para a produção de etanol de segunda geração (2G) e outros bioprodutos é necessária uma etapa de pré-tratamento a fim de romper a estrutura recalcitrante da parede celular vegetal e aumentar a acessibilidade das enzimas durante o processo de conversão dos polissacarídeos em açúcares simples. No entanto, nessa etapa de pré-tratamento também são gerados compostos inibidores que prejudicam as reações bioquímicas subsequentes de hidrólise enzimática e fermentação alcoólica à medida que os polissacarídeos e a lignina vão sendo degradados (MES-HARTREE; SADDLER, 1983; OLSSON; HAHN-HÄGERDAL, 1996; MOSIER et al., 2005; KO et al., 2015). Dessa forma, é necessário o desenvolvimento de estratégias para minimizar o impacto negativo dos compostos inibidores, de modo a melhorar o rendimento global das biorrefinarias.

Uma potencial estratégia é a utilização de biomassa microbiana como adsorvente, processo este chamado também de bioadsorção. Estudos de bioadsorção de compostos fenólicos e metais pesados de efluentes industriais já demonstraram a viabilidade da aplicação da biomassa microbiana tanto de bactérias como de fungos como adsorvente (KAPOOR et al., 1999; RAO; VIRARAGHAVAN, 2002; MATHIALAGAN; VIRARAGHAVAN, 2009; SHROFF; VAIDYA, 2011; JAVANBAKHT et al., 2014). Assim, o presente trabalho tem o objetivo de avaliar o uso da biomassa microbiana de *Aspergillus niger* como bioadsorvente para a remoção dos compostos fenólicos inibidores gerados no pré-tratamento da biomassa vegetal em biorrefinarias.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Obtenção dos bioadsorventes

A linhagem de fungos filamentosos *Aspergillus niger* C (BRMCTAA 82) foi obtida a partir da coleção da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Os esporos mantidos em congelador a -18 °C, foram ativados em placa petri contendo meio batata ágar dextrose (PDA) 39 g/L, por 96 h a 30 °C. A biomassa de *A. niger* foi cultivada por fermentação submersa por 5 dias a 220 rpm e 30 °C. O fungo foi inoculado a uma concentração de  $1,2 \cdot 10^7$  esporos/mL e o meio de cultivo utilizado foi composto de: dextrose anidra (20 g/L), peptona de soja (10 g/L) e extrato de levedura (3 g/L) (RAO; VIRARAGHAVAN, 2002). Após o período de tempo, a biomassa obtida foi filtrada e lavada com água deionizada, e então foi sujeita a três tipos de pré-tratamento:

- Autoclavada por 30 minutos a 121 °C e 124 kPa
- Imersa em solução de ácido sulfúrico 0,1 M por 1 h, e então autoclavada por 30 min
- Imersa em solução de hidróxido de sódio 0,1 M por 1 h, e então autoclavada por 30 min

Os tratamentos também foram baseados na metodologia de Rao e Viraraghavan (2002). As biomassas obtidas após os tratamentos foram secas em estufa a 60 °C por 36 horas e, posteriormente, moídas até serem obtidas partículas menores que 300 µm para serem usadas como bioadsorventes.

### 2.2. Ensaios de adsorção

Foram realizados testes preliminares com amostras sintéticas de vanilina, um monômero, e ácido tânico, um oligômero, de modo a analisar o comportamento da adsorção de compostos fenólicos pelos bioadsorventes. Estes compostos estão entre os fenólicos gerados no pré-tratamento da biomassa lignocelulósica e são grandes inibidores de enzimas (MALGAS et al., 2016; XIMENES et al., 2010; QIN et al., 2016). Também foram realizados os ensaios com a fração líquida proveniente do pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar.

Todos os ensaios foram conduzidos em batelada por 24 h, em estufa que possui um eixo rotatório (360°) na posição horizontal, promovendo a mistura das amostras durante o processo. A rotação utilizada nos experimentos foi de 30 rpm. Após cada experimento, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante separado para a leitura dos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu.

### 2.3. Caracterização morfológica

As características morfológicas da superfície do bioadsorvente foram caracterizadas através de imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram obtidas imagens antes e depois do contato da biomassa com a solução de ácido tânico.

### 3. Resultados e Discussão

Para 5% de carga de adsorvente em tampão pH 3 para as soluções de amostras sintéticas e pH original do licor, que é próximo de 3, os resultados em porcentagem de remoção de fenólicos estão apresentados na Figura 1. Em relação a todos os compostos estudados, a biomassa que se mostrou mais eficiente na adsorção foi a tratada com hidróxido de sódio. O ácido tânico demonstrou uma grande afinidade pela biomassa, com uma remoção de 90%. Para a vanilina a afinidade foi menor, com uma remoção de 22%. Em relação aos fenólicos totais presentes na fração líquida proveniente do pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar, a biomassa foi capaz de remover mais de 30% desses inibidores. Propriedades físicas e químicas desses compostos estão, possivelmente, contribuindo para essa diferença nas capacidades de adsorção de cada um.

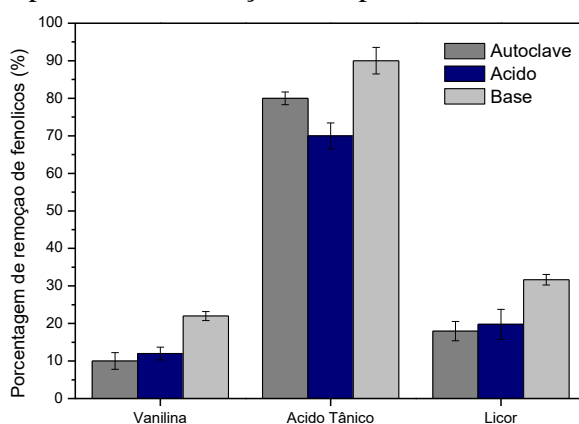


Figura 1. Porcentagem de remoção de vanilina, ácido tânico e fenólicos totais do licor para 5% de carga de adsorvente.

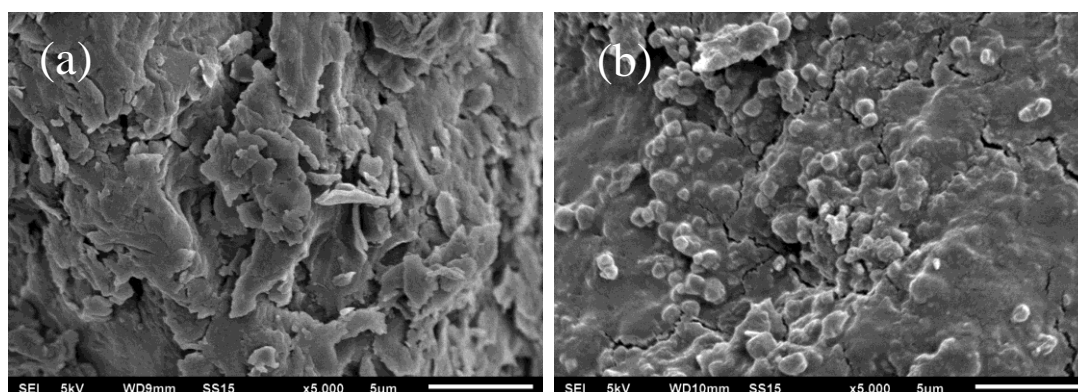


Figura 2. Imagens de microscopia da biomassa tratada com base, antes e após a adsorção de ácido tânico.

Foram feitas imagens da biomassa tratada com solução básica após a adsorção de ácido tânico, a fim de observar as mudanças na morfologia da superfície do adsorvente após o contato com a solução. Em comparação com a Figura 2 (a), a Figura 2 (b) mostra claramente as mudanças na superfície da biomassa de fungo devido as interações ocorridas entre as moléculas de ácido tânico e o bioadsorvente. A superfície sofreu uma deformação, se tornando menos rugosa. Este fenômeno provavelmente ocorreu devido a ligação de moléculas de ácido tânico aos grupos funcionais presentes na parede celular da biomassa, propiciando a deformação física de sua

superfície. Resultados similares de deformação da superfície da biomassa após a adsorção foram encontrados por outros autores (SHROFF; VAIDYA, 2012; HERRUTINER et al., 2011; TUNALI et al., 2005).

#### 4. Conclusões

A remoção dos compostos inibidores presentes no licor do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica em biorrefinarias é importante para o aumento do rendimento global do processo. A biomassa microbiana de *A. niger* demonstrou ter potencial para ser aplicada como bioadsorvente na remoção desses compostos, com uma capacidade de adsorção de mais de 30% dos fenólicos inibidores. O bioadsorvente obtido através do tratamento com solução básica se mostrou com maior capacidade de adsorção dos compostos, e o ácido tânico o composto com maior afinidade pelos bioadsorventes, com uma remoção de 90%.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem as agências de fomento FAPESP (processos 2016/10.636-8 e 2018/20.292-0), CAPES e CNPq pelo apoio financeiro, e as instituições Universidade Federal de São Carlos e Embrapa Instrumentação pelo suporte para o desenvolvimento do projeto.

#### Referências

- CHANDEL, A. K. et al. The path forward for lignocellulose biorefineries: Bottlenecks, solutions, and perspective on commercialization. *Bioresource Technology*, v. 264, n. June, p. 370–381, 2018.
- HERRUTINER, Y. E. et al. Caracterización de la biomasa inactiva de *Aspergillus niger* o-5 como sorbente de PB (II). *Quimica Nova*, v. 34, n. 7, p. 1141–1146, 2011.
- KAPOOR, A., VIRARAGHAVAN, T. & CULLIMORE, D. R. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology* v. 70, p. 95–104, 1999.
- KO, J. K. et al. Effect of liquid hot water pretreatment severity on properties of hardwood lignin and enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 112, n. 2, p. 252–262, 2015.
- MALGAS, S. et al. The inhibitory effects of various substrate pre-treatment by-products and wash liquors on mannanolytic enzymes. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 123, p. 132–140, 2016.
- MATHIALAGAN, T., VIRARAGHAVAN, T. 2006. Biosorption of pentachlorophenol from aqueous solutions by a fungal biomass. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 549-558, 2009.
- MES-HARTREE, M.; SADDLER, J. N. The nature of inhibitory materials present in pretreated lignocellulosic substrates which inhibit the enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnology Letters*, v. 5, n. 8, p. 531-536, 1983.
- MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v. 96, n. 6, p. 673-686, 2005.
- OLSSON, L.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 18, n. 5, p. 312-331, 1996.
- QIN, L. et al. Inhibition of lignin-derived phenolic compounds to cellulase. *Biotechnology for Biofuels*, v. 9, n. 70, 2016.
- RAO, J. R.; VIRARAGHAVAN, T. Biosorption of phenol from an aqueous solution by *Aspergillus niger* biomass. *Bioresource Technology*, v. 85, n. 2, p. 165–171, 2002.
- SHROFF, K. A. & VAIDYA, V. K. Effect of pre-treatments on the biosorption of chromium (VI) ions by the dead biomass of *Rhizopus arrhizus*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* v. 87, p. 294–304, 2011.
- TUNALI, S., KIRAN I., AKAR, T. Chromium (VI) biosorption characteristics of *Neurospora crassa* fungal biomass. *Minerals Engineering*, v. 18, p. 681-689, 2005.
- XIMENES, E. et al. Inhibition of cellulases by phenols. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 46, n. 3–4, p. 170-176, 2010.

## UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA DE SUCO DE MAÇÃ PARA A PRODUÇÃO DE FILMES RESISTENTES À UMIDADE

V. M. Silva<sup>1,\*</sup>, A. Manrich<sup>2</sup>, L. H. C. Mattoso<sup>3</sup>, M. A. Martins<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Química da UFSCar, Rod. Washington Luiz, km 235, SP 310, CEP 13565-905, São Carlos, SP.

<sup>2</sup> FAPED / Embrapa Instrumentação, rua XV de novembro, 1452, CEP 13561-2016, São Carlos, SP.

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, rua XV de novembro, 1452, CEP 13561-2016, São Carlos, SP.

\* Autor correspondente, e-mail: vivianemottak@gmail.com

**Resumo:** Nas indústrias alimentícias para sucos são gerados milhões de toneladas de resíduos do processamento das matérias primas. Dentre os resíduos, tem-se a polpa e casca de maçã, onde são encontradas várias substâncias valiosas, como lipídios, polissacarídeos e carboidratos. Na casca, encontra-se a cutina, um biopoliéster, constituído de hidrocarbonetos de ácidos graxos interesterificados. Estudos buscam alternativas para utilização destes resíduos no desenvolvimento de embalagens, de modo a minimizar os impactos ambientais e reduzir o consumo de embalagens de fontes de petróleo. Desta forma, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de filmes à base de pectina, polpa e cutina de maçã, sendo a cutina submetida ou não à reação enzimática, para aplicação de embalagens que possuam maior resistência à umidade. Os filmes foram obtidos em casting contínuo e caracterizados através de FTIR-ATR, ângulo de contato e resistência à tração. Os espectros de FTIR evidenciaram bandas de ligações de hidroxila, hidrocarbonetos e de carboidratos. Houve um aumento de hidrofobicidade para os filmes contendo cutina e o filme com reação enzimática apresentou melhora significativa quando comparada a superfície inferior. A partir destes resultados, pode-se concluir que é promissora a aplicação destes materiais para embalagens.

**Palavras-chave:** aproveitamento de resíduos agrícolas, cutina, filmes, hidrofobicidade.

### *USE OF WASTE FROM THE APPLE JUICE INDUSTRY FOR THE PRODUCTION OF MOISTURE RESISTANT FILM*

**Abstract:** In the juice food industries millions of tons of waste are generated from raw material processing. Among the waste, has the apple pulp and peel, where various valuable substances such as lipids, polysaccharides and carbohydrates are found. In the peel is the cutin, a biopolyester, consisting of interesterified fatty acid hydrocarbons. Studies seek alternatives for the use of these wastes for the development of packaging material, in order to minimize the environmental impacts caused and reduce the consumption of packaging from petroleum sources. Thus, this work aimed to develop films based on pectin, pulp and apple cutin, being the cutin subjected or not to the enzymatic reaction with lipase, for application on packaging materials that have greater resistance to moisture. The films were obtained in continuous casting and characterized by FTIR-ATR, contact angle and tensile strength. FTIR spectra showed bands of hydroxyl, hydrocarbon and carbohydrate bonds. There was an increase in hydrophobicity for films containing cutin and film after applying enzymatic reaction showed significant improvement for the lower surface. From these results, it can be concluded that the application of these packaging materials is promising.

**Keywords:** use of agricultural residues, cutin, films, hydrophobicity.

### 1. Introdução

Ao longo de décadas milhares de toneladas de resíduos de embalagens plásticos derivados de petróleo vem sendo depositados no ambiente, causando prejuízos à flora e fauna terrestres e

marinhos (Gustavsson et al., 2019) e, para contornar este problema, cientistas vem buscando alternativas para a substituição dessas embalagens, através do desenvolvimento de materiais de embalagem biodegradáveis a partir de recursos naturais renováveis (Mostafa et al., 2018). Substâncias como polissacarídeos, proteínas e fibras vegetais apresentam características positivas para compor biocompósitos que são comparativamente menos dispendiosos e naturalmente biodegradáveis. Destaca-se dentre as fontes dessas substâncias os produtos derivados de prática agrícolas, pois, além de serem mais baratos, sua utilização pode contribuir para a redução dos resíduos e beneficiar as cadeias produtivas (Gaikwad et al., 2016).

Um resíduo vegetal abundante é a polpa da maçã, resultante da indústria processadora da fruta, que tem seu principal produto o suco concentrado de maçã. Segundo a FAO, a produção mundial de maçã nas últimas cinco décadas aumentou em 424% de 17,0 milhões de toneladas em 1961 para 89,3 milhões de toneladas em 2016 e foram produzidos 84,6 milhões de toneladas de maçã em 2017, sendo que aproximadamente 19% dessa produção tornam-se resíduos e são descartados (Radenkovs et al., 2018). A polpa de maçã é um resíduo produzido em grande escala e é considerado um problema ambiental (Shalini e Gupta, 2010). Rica em polifenóis, antioxidantes e fonte de pectina, a polpa de maçã vem sendo explorada para usos diversos, como combustível para caldeira, fermentação para produção de etanol, biogás e enzimas, além da extração de pectina (Shalini e Gupta, 2010).

A casca da maçã também é considerada um resíduo agroindustrial importante (Shalini e Gupta, 2010). Além de ser fonte de antioxidantes e fibras, a casca de maçã contém cutina, um biopoliéster amorfo, constituído por ácidos graxos interesterificados, com cadeia longa, unido uns aos outros por ligações de éster. Os principais componentes da cutina são derivados de monômeros de C<sub>16</sub> e C<sub>18</sub>, com grupos hidroxilos ou epóxidos situados no meio ou na extremidade da cadeia (Kolattukudy, 2005). A cutina, quando introduzida a filmes comestíveis, pode aumentar a sua hidrofobicidade (Manrich et al., 2017).

Neste projeto pretende-se explorar o resíduo de maçã originário da fabricação de suco de maçã, cidra e vinagre para desenvolver filmes de embalagens comestíveis ou biodegradáveis. A produção de filmes comestíveis vem sendo estudada com ênfase por diversos grupos de pesquisa, no entanto, eles apresentam baixa barreira à permeação de gases, propriedades mecânicas inferiores a filmes convencionais e baixa resistência à umidade (Mendes et al., 2019). Para superar esses desafios, propõe-se utilizar a cutina obtida da casca de maçã, submetida ou não a reação enzimática com lipase. As lipases são enzimas capazes de catalisar uma ampla gama de reações reversas (esterificação, interesterificação e transesterificação), em meio orgânico. Para a obtenção da cutina, utiliza-se uma metodologia que rompe parcialmente a cadeia lipídica polimérica, perdendo parte de suas propriedades originais. Com o emprego da lipase, a estrutura parcialmente hidrolisada da cadeia de ácidos graxos da cutina poderá ser recuperada, tornando-se mais hidrofóbica e assemelhando-se mais a sua estrutura original, encontrada no fruto intacto (Mihailović et al., 2014). Além de cutina e polpa de maçã, a pectina será adicionada na composição com o objetivo de melhorar as propriedades do filme, durante seu processamento, tornando-o mais coeso, devido a matriz formada desta com a polpa da fruta (Munhoz et al., 2018).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Produção de filmes

#### 2.1.1. Reação enzimática com lipase

Preparou-se uma suspensão de cutina em acetona, com concentração de 20% (m/m), sob agitação magnética por 2 horas. Em seguida, foi adicionado 5 mg da enzima Lipase B. Cândida Antártica e agitou-se na incubadora Shaker por 48 horas, 50 °C e 100 rpm. Após 48 horas, a amostra foi congelada para cessar a reação enzimática e liofilizada, obtendo-se a cutina seca.

#### 2.1.2. Preparação dos filmes

Para produção das soluções filmogênicas, foi adicionado 5 g de polpa de maçã e 1 g de



pectina de baixa metoxilação ( $M = 170,000 \text{ g.mol}^{-1}$ ) em 94 g de água ultrapura (sistema Milli-Q), usando um mixer 700 (marca Philco) para obter uma solução a 6% (m/m). Foram produzidas mais duas soluções, separadamente, adicionando a cutina submetida ou não à reação enzimática. As soluções foram desgaseificadas em uma centrífuga durante 15 min, a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  e 8000 rpm e agitadas suavemente com bastão de vidro. Os filmes foram secos em batelada contínua, em uma máquina de vazamento KTF-S (Werner Mathis AG) a uma temperatura de 100 e  $110 \text{ }^\circ\text{C}$ , na primeira e segunda estufa, respectivamente, com velocidade de  $0,07 \text{ m.min}^{-1}$ , radiação IV de 40% e espessura de 2,0 mm.

## 2.2. Caracterização dos filmes

### 2.2.1. FTIR-ATR

Os filmes foram condicionados por 48 h a  $25^\circ\text{C}$  e 50% UR. Realizou-se as medidas em um espectrômetro FT-NIR VERTEX. Os espectros foram registrados em um acessório de cristal de Ge de  $100 \text{ }\mu\text{m}$  de largura, com 32 varreduras e resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$ , na faixa espectral de  $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ .

### 2.2.2. Ângulo de contato

O ensaio foi realizado em um medidor de contato óptico CAM 101 com câmera digital CCD KSV-5000 e software KSV CAM2008. Foram pipetados  $5 \text{ }\mu\text{L}$  de água Milli-Q nas superfícies dos filmes e gravando 90 imagens em 60 segundos. As análises foram realizadas nas superfícies superior e inferior, para cada amostra, com 5 repetições, conforme a norma ASTM D5725-99 (2008).

### 2.2.3. Propriedades mecânicas

O ensaio mecânico foi realizado em um texturômetro TA. XT. Plus, com célula de carga de 0,049 N. Os corpos de prova foram cortados em retângulos ( $50 \times 5 \text{ mm}$ ), com 10 repetições para cada amostra e a espessura foi medida em triplicada, utilizando um micrômetro digital. As amostras foram colocadas verticalmente, com comprimento de calibre de 20 mm e alongamento na velocidade de  $0,08 \text{ mm.s}^{-1}$ .

## 3. Resultados e Discussão

A Figura 1 apresenta imagens dos filmes obtidos, onde se pode observar a mudança de coloração em função do processamento.

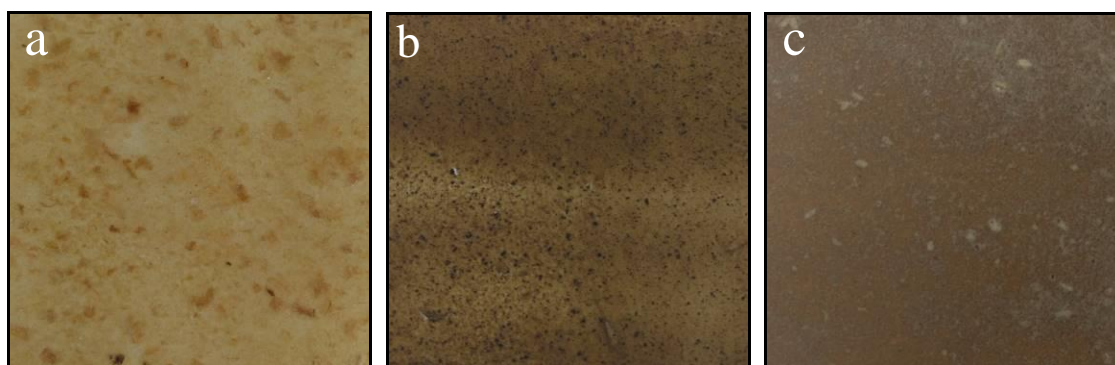


Figura 1. Filmes de (a) polpa de maçã/pectina, (b) polpa de maçã/pectina/cutina e (c) polpa de maçã/pectina/cutina após reação enzimática.

Nos espectros de FTIR-ATR dos filmes (Figura 2) verifica-se que os filmes contendo cutina em sua composição apresentaram espectros semelhantes, ocorrendo sobreposição em determinadas bandas, evidenciando bandas de ligações C-H de lipídeos, hidroxilas de carboidratos, e de grupos ésteres e carboxílicos. Nota-se um aumento na intensidade das bandas referente à vibração de

estiramento da ligação C-H, em 2918 e 2850  $\text{cm}^{-1}$ , para os filmes contendo cutina, indicando sua característica lipídica. As intensidades das bandas entre 1200 e 1000  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas ao estiramento da ligação C-O, característica de carboidratos, diminuiu com a adição de cutina. Pode-se observar bandas intensas e largas, referente às vibrações de estiramento da ligação OH, na região entre 3340-3300  $\text{cm}^{-1}$ . Há também, presença de bandas em 1750-1400  $\text{cm}^{-1}$ , correspondente às vibrações de estiramento da carbonila, atribuídas aos grupos ésteres e carboxílicos.

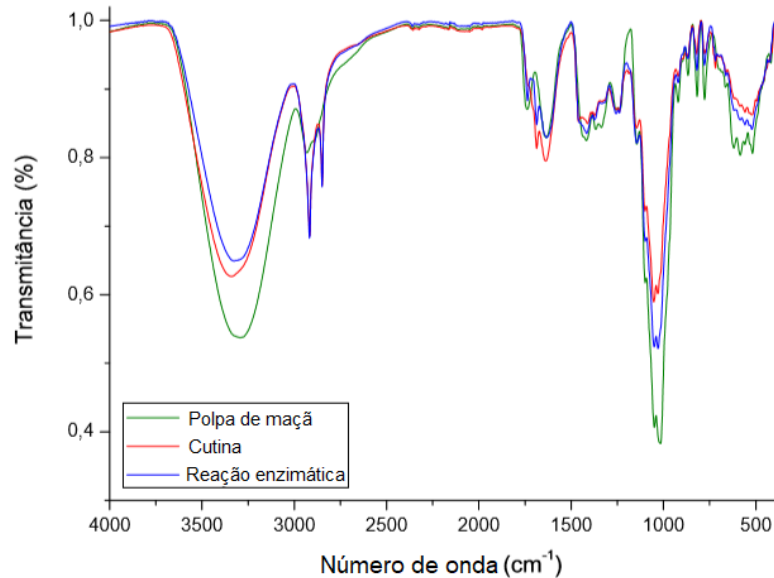


Figura 2. Espectros FTIR-ATR dos filmes de polpa de maçã/pectina, polpa de maçã/pectina/cutina e polpa de maçã/pectina/cutina após reação enzimática.

A Figura 3 mostra os valores médios do ângulo de contato da superfície superior e inferior dos filmes em relação ao tempo. Nota-se um aumento de hidrofobicidade para os filmes contendo cutina em sua composição, sendo os filmes após reação enzimática mais hidrofóbicos. Foram observados diferenças significativas no ângulo de contato tanto para a superfície superior quanto para a inferior quando comparados os filmes de polpa de maçã/pectina e polpa de maçã/pectina/cutina. Entretanto, para o filme após reação enzimática, houve uma melhora no ângulo de contato somente para a superfície inferior.

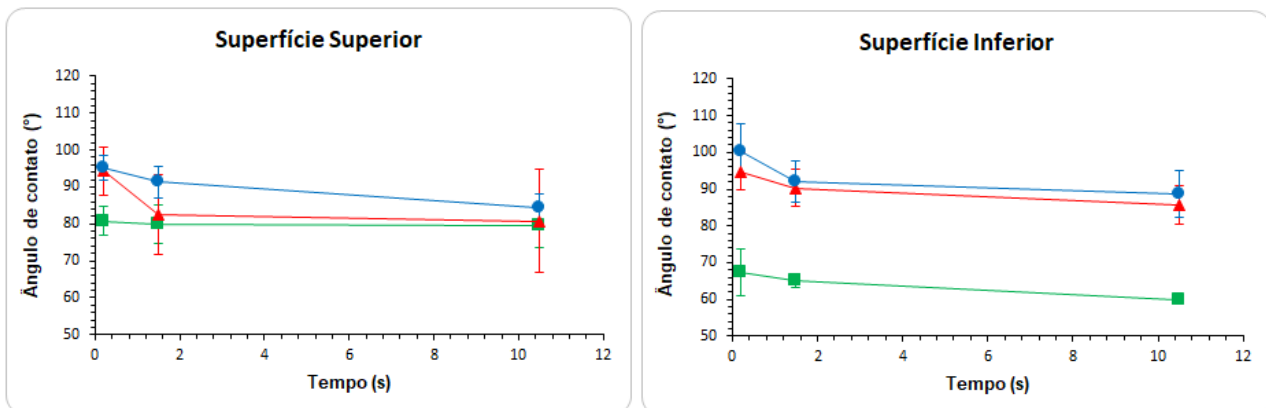


Figura 3. Valores do ângulo de contato da superfície superior e inferior dos filmes (■) polpa de maçã/pectina, (▲) polpa de maçã/pectina/cutina e (●) polpa de maçã/pectina/cutina após reação enzimática.

Os filmes também foram caracterizados em relação as propriedades mecânicas e os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 1. Os resultados mostraram que os filmes com cutina

são frágeis. O filme com polpa de maçã/pectina apresentou melhor resultado de resistência à tração, módulo elástico e deformação de ruptura.

Tabela 1. Valores do ensaio mecânico de tração para os filmes com polpa de maçã.

Filmes	Espessura ( $\mu\text{m}$ )	Resistência à tração (MPa)	Módulo elástico (GPa)	Deformação de ruptura (%)
Maçã/Pectina	189 $\pm$ 17	4 $\pm$ 1	0,03 $\pm$ 0,01	14,5 $\pm$ 2,4
Maçã/Pectina/Cutina	152 $\pm$ 8	1 $\pm$ 0	0,01 $\pm$ 0	11,1 $\pm$ 3,3
Maçã/Pectina/Cutina Reação enzimática	190 $\pm$ 15	2 $\pm$ 1	0,02 $\pm$ 0	13,2 $\pm$ 3,1

#### 4. Conclusões

Pode-se concluir que a adição de cutina aumentou o caráter hidrofóbico nos filmes e foi eficaz a sua reação enzimática com a lipase, pois verificou-se um aumento de hidrofobicidade em ambas as superfícies. Porém houve uma diminuição nas propriedades mecânicas que devem ser melhor estudadas.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa, ao MCTI/SisNANO (402287/2013-4), CNPq ((Processo: 409354/20018-0), e a Rede AgroNano.

#### Referências

- GAIKWAD, K. K.; LEE, J. Y.; LEE, Y. S. Development of polyvinyl alcohol and apple pomace bio-composite film with antioxidant properties for active food packaging application. *Journal Food Scientist and Technologists*. 2016. 53(3). p. 1608-1619.
- GUSTAFSSON, J.; LANDBERG, M.; BÁTORI, V.; ÅKESSON, D.; TAHERZADEH, M. J.; ZAMANI, A. Development of bio-based films and 3D objects from apple pomace. *Polymers*. 2019. 11, 289. DOI:10.3390/polym11020289.
- KOLATTUKUDY, P. E. Cutin from plants. *Biopolymers Online*. 3a. 2005.
- MANRICH, A.; MOREIRA, F. K. V.; OTONI, C. G.; LOREVICE, M. V.; MARTINS, M. A.; MATTOSO, L. H. C. Hydrophobic edible films made up of tomato cutin and pectin. *Carbohydrate Polymers*, 164, p. 83–91. 2017.
- MENDES, J. F.; MARTINS, J. T.; MANRICH, A.; SENA NETO, A. R.; PINHEIRO, A. C. M.; MATTOSO, L. H. C.; MARTINS, M. A. Development and physical-chemical properties of pectin film reinforced with spent coffee grounds by continuous casting. *Carbohydrate Polymers*. 2019. p. 92-99.
- MIHAILOVIĆ, M.; STOIANOVIĆ, M.; BANIANAC, K.; CAREVIĆ, M.; PRLAINOVIĆ, N.; MILOSAVIĆ, N.; BEZBRADICA, D. Immobilization of lipase on epoxy-activated Purolite® A109 and its post-immobilization stabilization. *Process Biochem*. 2014, 49, p. 637-646.
- MOSTAFA, N. A.; FARAG, A. A.; ABO-DIEF, H. M.; TAYEB, A. M. Production of biodegradable plastic from agricultural wastes. *Arabian Journal of Chemistry*. 2018. 11. P. 546-553.
- MUNHOZ, D. R.; MOREIRA, F. K.; BRESOLIN, J.D.; BERNARDO, M. P.; SOUSA, C. P.; MATTOSO, L. H. C. Sustainable production and in vitro biodegradability of edible films from yellow passion fruit co-products via continuous casting. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2018.
- RADENKOV, V.; KVIESIS, J.; JUHNEVICA-RADENKOVA, K.; VALDOVSKA, A.; PÜSSA, T.; KLAVINS, M.; DRUDZE, I. Valorization of wild apple (*Malus* spp.) by-products as a source of essential fatty acids, tocopherols and phytosterols with antimicrobial activity. *Plants*. 2018. 7, 90. DOI:10.3390/plants7040090.
- SHALINI, R.; GUPTA, D. K. Utilization of pomace from apple processing industries: a review. *Journal Food Scientist and Technologists*. 2010. 47(4). p. 365-371.

**AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE COMPÓSITOS BIOATIVOS BASEADOS EM POLI (ÁCIDO LÁTICO) E HIDROXIAPATITA PARA IMPRESSÃO 3D**

Bruna C. R. SILVA<sup>1,2</sup>; Marcela P. BERNARDO<sup>1,\*</sup>, Francys K.V. MOREIRA<sup>1,3</sup>, Luiz H. C. MATTOSO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório Nacional de Nanotecnologia para Agricultura (LNNA), Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13561-206, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Departamento de Química (DQ), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Rodovia Washington Luiz s/n, 13565-905, São Carlos, SP

<sup>3</sup> Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Rodovia Washington Luiz s/n, 13565-905, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: marcelapiassib@gmail.com

**Resumo:** É notável o aumento do número de pacientes com injúrias no tecido ósseo que requerem procedimentos cirúrgicos, como enxertos ósseos, no entanto danos ósseos extensos são reais desafios à cirurgia reconstrutiva. A engenharia de tecidos possibilita a obtenção de *scaffolds* (materiais de suporte) que atuam como substituintes sintéticos de ossos e de enxertos. A fabricação livre de formas sólidas permite a confecção de estruturas 3D complexas, específicas para situação e/ou paciente. O objetivo deste trabalho foi determinar a influência que diferentes concentrações de hidroxiapatita podem ter nas propriedades térmicas de filamentos compósitos baseados em poli(ácido lático) utilizados para impressão 3D de substituintes ósseos. Os filamentos compósitos apresentaram distribuição homogênea da hidroxiapatita na matriz polimérica e efetiva interação entre os componentes evidenciadas pelo aumento da temperatura de degradação do polímero e da temperatura de transição vítrea, respectivamente. No entanto, não foram observadas diferenças nas temperaturas de transição térmica dos filamentos compósitos em decorrência do aumento da concentração de hidroxiapatita.

**Palavras-chave:** Compósitos bioativos, modelagem por fusão, enxertos ósseos.

**PHYSICO-CHEMICAL ASSESSMENT OF BIOACTIVE COMPOSITES BASED POLY(LACTIC ACID) AND HYDROXYAPATITE FOR 3D PRINTING**

**Abstract:** It is remarkable the increase of number of patients with bone injuries that requires surgical procedures, such as bone grafts, however extensive bone damages are real challenges for reconstructive surgeries. Tissue engineering allows the construction of scaffolds which may act as synthetic substituents of bone and grafts. The fused deposition modelling permits the manufacture of complex 3D structures, specific for each situation and patients. The main goal of this work was to determine the influence of hydroxyapatite concentration on the thermal properties of composite filaments based on poly(lactic acid) for 3D printing of bone substituents. The composite filaments showed homogeneous distribution of hydroxyapatite particles within the polymer matrix. An effective interaction between the components was evidenced by the increases of the degradation and glass transition temperatures of polymer, respectively. However, no differences were observed on the thermal properties of the composite filaments due to the increasing hydroxyapatite content

**Keywords:** Bioactive composites, fused deposition modelling, graft bones.

**1. Introdução**

É notável o aumento do número de pacientes com injúrias no tecido ósseo que requerem procedimentos cirúrgicos, como enxertos ósseos. É estimado que cerca de 1 milhão de casos de danos ósseos ocorram por ano no Canadá. O custo anual ao sistema nacional de saúde dos EUA

com pacientes que sofreram perdas de tecidos, incluindo o tecido ósseo, excede 400 bilhões de dólares. O cenário não é diferente no Brasil, em 2004 o SUS teve total de gastos com cirurgias ortopédicas de 575 milhões de reais, sendo 145 milhões destinados à aquisição de próteses ortopédicas (LANGER; VACANTI, 1993; SALGADO et al., 2004).

Extensos danos ósseos são reais desafios à cirurgia reconstrutiva. Preferencialmente, são usados enxertos ósseos autólogos (do próprio paciente) ou alogênicos (de um doador externo) como tratamento. No entanto, o fornecimento de ossos compatíveis é limitado. Além disso, a coleta autóloga é dolorosa, com grande risco de infecção, hemorragia, danos e perda da atividade dos nervos (PETITE et al., 2000; DAMIEN; PARSONS, 1991). A engenharia de tecidos tem se mostrado como estratégia alternativa aos métodos convencionais de cirurgias reconstrutivas, com destaque ao desenvolvimento de materiais para aplicação em grandes áreas ósseas afetadas por traumas (BURG et al., 2000; BROWN et al., 1982). Os chamados “*scaffolds*” (materiais de suporte) são substituintes sintéticos de ossos, tidos como instrumentos de substituição aos enxertos, sejam eles autoenxertos ou enxertos alógenos. Assim, devem apresentar algumas propriedades compatíveis a sua aplicação, como biocompatibilidade, bioatividade, osteocondução, osteoindução e biodegradabilidade. Por serem multidimensionais (3D) os *scaffolds* podem ser utilizados na restauração de grandes proporções de tecidos ósseos (GELTILE et al., 2014; WINDER; BIBB, 2005; COLIN;BOIRE, 1997).

No entanto, a fabricação de *scaffolds* permanece como grande desafio tecnológico à engenharia de tecidos ósseos. Uma alternativa é a fabricação livre de formas sólidas pela confecção de estruturas 3D complexas, específica para cada situação e/ou paciente. A impressão 3D de objetos tem progredido muito com a integração de técnicas de imagem avançadas permitindo o controle tanto da macroestrutura quanto da microestrutura do dispositivo, de forma que a fabricação de dispositivos 3D seja personalizada.

O objetivo deste trabalho foi determinar a influência da concentração de hidroxiapatita (HA) sobre as propriedades térmicas de filamentos compósitos poli(ácido láctico) (PLA)/HA utilizados para impressão 3D de substituintes ósseos.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Obtenção de filamentos por extrusão

Hidroxiapatita (Sigma-Aldrich) foi misturada fisicamente a PLA 2003D (NatureWorks) em pó, em diferentes proporções (%) PLA:HA (80:20 a 65:35). A mistura foi secada em estufa e submetida a extrusora dupla rosca 19 mm, *Barker & Perkins Process Equipaments and Systems* com todas as zonas a 180°C, rotação de 120 rpm e taxa de alimentação 0,5 kg/h. Foram obtidos filamentos com espessura de 1,75 mm.

### 2.2 Caracterizações

O perfil de degradação térmica das amostras foi realizado por termogravimetria (TG/DTG) em analisador termogravimétrico TGA Q500, *TA Instruments*, sob atmosfera de nitrogênio, até 600°C com rampa de aquecimento de 10°C/min. Os diferentes eventos térmicos dos compósitos foram analisados por calorimetria exploratória diferencial (DSC), em um calorímetro DSC Q100, *TA Instruments*, em três etapas, a primeira de aquecimento (até 200°C) seguida por resfriamento (até -50°C) e novamente aquecimento até 200°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min.

## 3. Resultados e Discussão

Os perfis termogravimétricos dos materiais mostraram que após a completa degradação do PLA entre 250 e 400 °C, restou uma grande quantidade de resíduo sólido inorgânico, compatível com a massa de hidroxiapatita em cada compósito, como mostrado da Fig. 1.

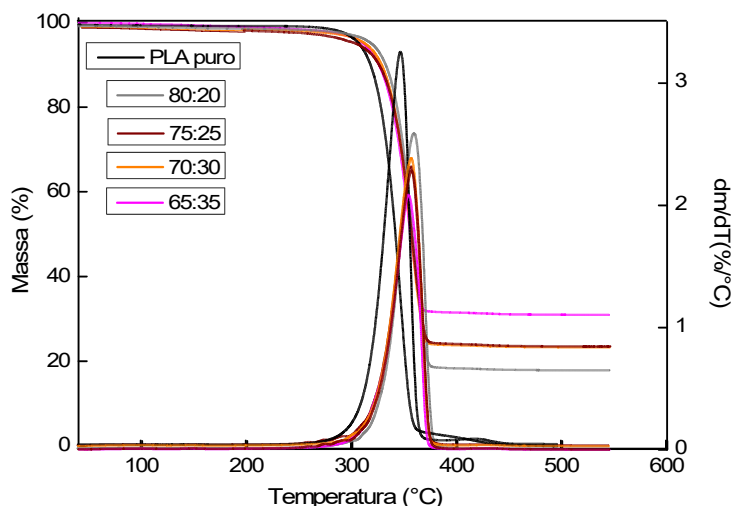


Figura 1. TG/DTG para PLA puro e filamentos compostos PLA:HA em suas diferentes proporções.

Além disso, nos compostos, a temperatura de máxima taxa de degradação do PLA foi 10 °C maior que aquela do PLA puro, independente da concentração da hidroxiapatita. As partículas de hidroxiapatita podem estar dispersas homogeneamente na matriz polimérica em função da mistura intensiva na extrusora dupla rosca e pela capacidade calorífica da HA ser maior que do PLA, a HA atua como isolante térmico no composto, o que leva a maior temperatura de degradação para os filamentos em comparação ao PLA puro.

Os dados de temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), cristalização a frio ( $T_{cc}$ ) e de fusão ( $T_m$ ) obtidos por DSC para o PLA puro e para os filamentos compostos estão apresentados na Tabela 1. Adicionalmente, a curva de DSC para o PLA puro está representada na Fig 2.

Tabela 1. Temperaturas dos eventos térmicos para PLA puro e filamentos compostos PLA:HA em suas diferentes proporções, durante segundo aquecimento.

PLA/HA	$T_g$ (°C)	$T_m$ (°C)	$T_{cc}$ (°C)
100:0 (PLA puro)	61	152	122
80:20	56	151	135
75:25	56	149	126
70:30	57	151	130
65:35	55	150	128

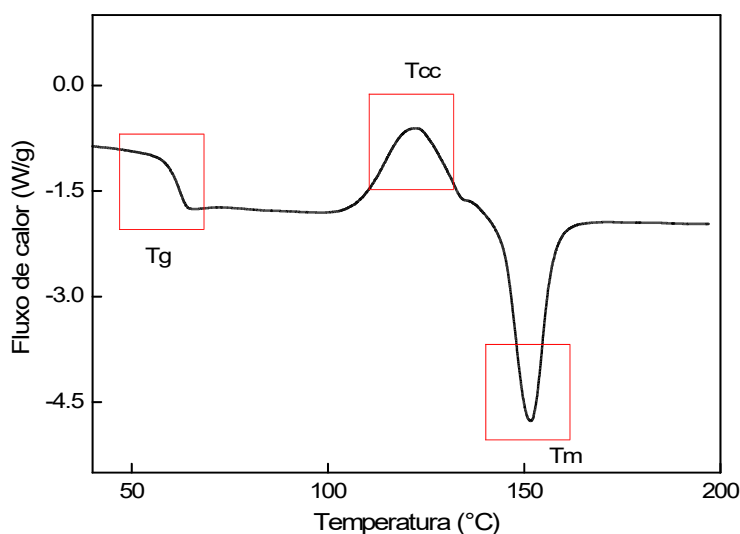


Figura 2. Curva de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para PLA puro

Os resultados de DSC indicaram que a presença de hidroxiapatita diminuiu discretamente a temperatura de transição vítrea, em aproximadamente 5 °C em relação ao PLA puro, para todos os filamentos compósitos, provavelmente devido a interação entre os componentes, PLA e HA. De maneira oposta, a temperatura de cristalização a frio aumentou ligeiramente para todos os filamentos compósitos, neste caso, a hidroxiapatita atua como barreira para a nucleação dos cristais do polímero. Por outro lado, a temperatura de fusão não apresentou variações consideráveis entre as amostras (AKINDOYOY et al., 2018; LIU et al., 2014).

#### 4. Conclusões

Através da extrusão da mistura física dos pós de PLA e hidroxiapatita foi possível obter filamentos com 1,75 mm. Estes compósitos apresentaram distribuição homogênea dos componentes evidenciada pelos teores de resíduos obtidos por termogravimetria. Além disso, a efetiva interação entre os componentes aumentou a temperatura de degradação e reduziu a temperatura de transição vítrea dos compósitos. A hidroxiapatita atua como barreira à cristalização a frio do PLA. No entanto, não foram observadas diferenças significativas nas transições térmicas com relação a concentração de hidroxiapatita no compósito. Em outras palavras, uma maior concentração de hidroxiapatita não altera as propriedades térmicas dos compósitos permitindo, portanto, o aumento da proporção da cerâmica com propriedades osteoindutoras no filamento sem comprometimento de suas propriedades térmicas. Assim, foi possível obter um filamento bioativo com potencial de promover a regeneração de tecido ósseo e compatível com impressora 3D.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP (Processo 2018/07860-9), SISNANO/MCTI, CNPq e rede AgroNano.

#### Referências

- AKINDOYO, J. O. et al. Impact modified PLA-hydroxyapatite composites–Thermo-mechanical properties. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, v. 107, p. 326-333, 2018.
- BROWN, K.L. et al. Bone and cartilage transplantation in orthopaedic surgery. A review. *JBJS*, v. 64, p. 270-279, 1982.
- BURG, K. J. et al. Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials*, v. 21, p. 2347-2359, 2000.
- COLIN, A.; BOIRE, J.Y. A novel tool for rapid prototyping and development of simple 3D medical image processing applications on PCs. *Comput Methods Programs Biomed*, v. 53, p.87–92, 1997.
- DAMIEN, C. J.; PARSONS, J.R. Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. *J Appl Biomater*, p. 187-208, 1991.
- GENTILE, P. et al. An overview of poly (lactic-co-glycolic) acid (PLGA)-based biomaterials for bone tissue engineering. *International journal of molecular sciences*, v. 15, p. 3640-3659, 2014.
- LANGER, R.; VACANTI, J.P. *Tissue Engineering*. Science, p. 920-926, 1993.
- LIU, X. et al. Effects of inorganic fillers on the thermal and mechanical properties of poly (lactic acid). *International journal of polymer science*, v. 2014, 2014.
- PETITE, H. et al. Tissue-engineered bone regeneration. *Nature biotechnology*, v. 18, p. 959, 2000.
- SALGADO, A. J. et al. Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends. *Macromolecular Bioscience*, v. 4, p. 743-765, 2004.
- WINDER, J.; BIBB, R. Medical rapid prototyping technologies: state of the art and current limitations for application in oral and maxillofacial surgery. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, v. 63, p. 1006-1015, 2005.

## PRODUÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE BATATA POR CASTING CONTÍNUO

G. B. Silveira<sup>1</sup>, T. Y. Chen<sup>1</sup>, F. K. V. Moreira<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Embalagens Multifuncionais, Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luís, Km 235, 13565-905, São Carlos, SP, Brasil

\* Autor correspondente, e-mail: francys@ufscar.br

**Resumo:** Este trabalho foi dedicado à produção de filmes de amido de batata por *casting* contínuo, buscando estabelecer um processo escalonado de produção de filmes biodegradáveis para aplicação no setor de embalagens. Os filmes foram produzidos a partir da gelatinização da fécula de batata na presença dos plastificantes glicerol e sorbitol no teor de 20 m.%, e posteriormente caracterizados quanto à variação da espessura e propriedades óticas. O uso do *casting* contínuo possibilitou a obtenção dos filmes de amido com boa uniformidade de espessura tanto na direção longitudinal quanto transversal do *casting*. A produtividade em  $\text{m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$  foi, no mínimo, 270 vezes maior em relação ao *casting* de bancada. Percebeu-se que o filme plastificado com sorbitol foi de mais fácil manuseio em relação àquele plastificado glicerol, o qual apresentou aspecto pegajoso. No geral, os filmes de amido de batata apresentaram alta transparência e claridade (>90 %). Foi confirmada então a viabilidade de produção escalonada de filmes de amido de batata com ampla faixa de propriedades para várias aplicações. A caracterização mecânica desses materiais está em andamento.

**Palavras-chave:** plástico biodegradável, processamento, escalonamento, embalagem.

**PRODUCTION OF BIODEGRADABLE POTATO STARCH FILMS BY CONTINUOUS CASTING**

**Abstract:** This study was dedicated to the obtaining of potato starch films by continuous casting, aiming at establishing the scaled-up production of biodegradable films for packaging applications. The films were produced from the potato starch gelatinization in the presence of plasticizers glycerol and sorbitol at 20 m.%, and further characterized for their thickness and optical properties. The continuous casting allowed to obtain potato starch films with good thickness uniformity both at the longitudinal and transverse casting directions. Productivity in  $\text{m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$  was 270-fold larger than that obtained with bench casting. The sorbitol-plasticized film was easier to handle compared to the glycerol-plasticized one, which had a sticky texture. Overall, potato starch films showed high transparency and clarity (> 90%). This study confirmed the feasibility of scaled-up production of potato starch films with a wide range of properties for various applications. Mechanical characterization of the continuously cast potato starch films is underway.

**Keywords:** biodegradable plastic, processing, scalability, packaging.

**1. Introdução**

Os plásticos sintéticos utilizados como embalagem são duráveis e inertes na presença de microrganismos, logo, seu desempenho é mantido a longo prazo. Entretanto, com uma ênfase cada vez maior em minimizar a poluição plástica, dado todos os seus prejuízos ao planeta, a procura por filmes biodegradáveis de fonte renovável tem aumentado nas últimas décadas (OGUNSONA, OJOGBO & MEKONNEN, 2018). O amido é um polímero natural promissor para a fabricação de plásticos biodegradáveis para embalagem, afinal, além de baixo custo e abundância, ele apresenta o caráter renovável tão pesquisado atualmente. O amido é encontrado na forma de grânulos em sementes e raízes, e as principais fontes comerciais são o milho, a mandioca e a batata (MOREIRA 2014).



A produção de filmes biodegradáveis de amido tem sido realizada por *casting*/evaporação (processo via úmida) ou por extrusão (processo via seca). Todavia, apenas os filmes obtidos por *casting*/evaporação apresentam qualidade estética adequada para uso como embalagem de produtos alimentícios (THAKUR et al. 2019). O processo envolve a gelatinização do amido através da mistura com água, com subsequente aquecimento acima da temperatura de gelatinização do polímero. A solução é então espalhada sobre uma superfície apropriada onde a água é evaporada e o filme se forma. A água é um excelente plastificante/solvente para o amido, porém como ela é removida no processo de secagem, o filme se torna frágil e quebradiço. Logo, a solução precisa ser combinada com outros plastificantes, tais como glicerol, sorbitol e açúcares de baixa massa molar (sacarose, glicose, xilose, frutose etc.). Os plastificantes são essenciais para os filmes de amido porque aumenta a flexibilidade e permite o ajuste das propriedades mecânicas para diferentes aplicações (MOREIRA et al. 2013).

Em geral, o método *casting*/evaporação é realizado em batelada, logo apresenta baixa produtividade na formação de filmes (MUNHOZ et al. 2018). É também uma técnica demorada porque a água é o único solvente viável para o amido. Dessa forma, o método *casting* em batelada não é adequado para produção de filmes de amido em larga escala.

Assim sendo, o presente trabalho foi dedicado à adaptação da técnica de *casting* para fabricação de filmes de amido de batata de forma escalonada. Para isto, foi utilizado um equipamento de laminação equipado com cama de condução de calor para acelerar a formação dos filmes. O efeito da adição dos plastificantes glicerol e sorbitol foi avaliado em função da espessura e aspecto ótico dos filmes.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Materiais

Foram utilizados fécula de batata tipo 1 (fonte de amido) obtida em estabelecimento comercial em São Carlos. Glicerol e sorbitol de alta pureza (99,5%) foram adquiridos da Synth (Diadema, SP, Brasil). Todas as soluções foram preparadas utilizando exclusivamente água destilada.

### 2.2. Gelatinização do amido de batata

A solução de amido de batata foi preparada pela gelatinização do polímero a 75 - 80 °C. Inicialmente, o amido foi adicionado em água, seguido pelo aquecimento por 30 min em banho-maria para obter solução com concentração de 1 m.% e 10 m.%. Foram preparadas duas soluções diferentes contendo sorbitol e glicerol na concentração de 20 m.%, em relação a massa de amido.

### 2.3. Casting em batelada

A solução de amido 1 m.% foi espalhada em bandeja antiaderente circular (D = 26 cm) e secada em estufa de circulação de ar a 45 °C por 24 h. O filme formado foi armazenado em saco plástico e condicionado sob temperatura ambiente antes das caracterizações.

### 2.4. Casting contínuo

Os filmes de amido de batata foram obtidos em uma unidade piloto de laminação Table Topp Tape Caster (TTC) mostrada na Figura 1. A unidade TCC foi alimentada com a solução de amido no cocho do dispositivo de laminação onde elas foram espalhadas sobre um substrato poliéster móvel utilizando uma faca de laminação na espessura de 0,5 mm (Figura 2A). A lâmina úmida é formada pelo arraste da solução contida no cocho devido ao movimento do substrato. A velocidade foi ajustada em 2 mm/s (10 cm/min). A lâmina úmida foi transportada através de uma zona de secagem composta por uma base metálica aquecida por resistências elétricas e um sistema de convecção de ar quente (Figura 2B). As temperaturas da base metálica e da corrente de ar foram ajustadas em 70 °C. Neste caso, a água foi eliminada pelo aquecimento da lâmina úmida em contato com a base metálica e pela convecção forçada de ar quente. Após secagem completa da lâmina

úmida, o filme de amido foi bobinado no mandril final da unidade TTC) e armazenado em embalagem plástica e condicionado sob temperatura ambiente antes das caracterizações.

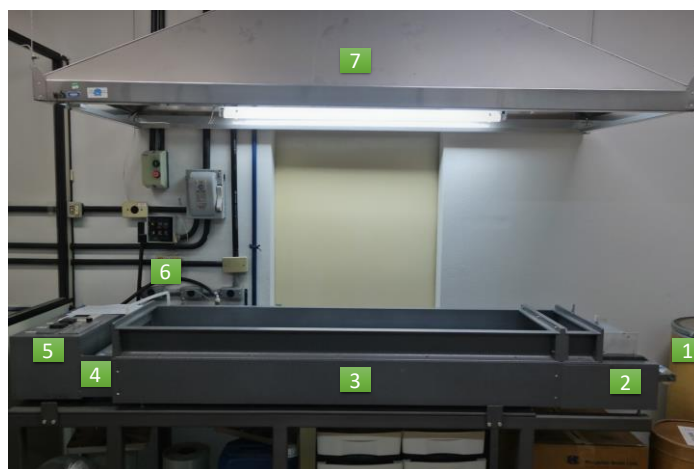


Figura 1. Visão geral da unidade piloto de laminação Table Topp Tape Caster (TTC). (1) Mandril para encaixe de bobina de substrato plástico. (2) Dispositivo de laminação. (3) Zona de secagem da unidade de laminação. (4) Mandril para bobinamento do substrato plástico. (5) painel de controle da unidade de laminação. (6) Sistema de ejeção de ar quente. (7) Exaustor.

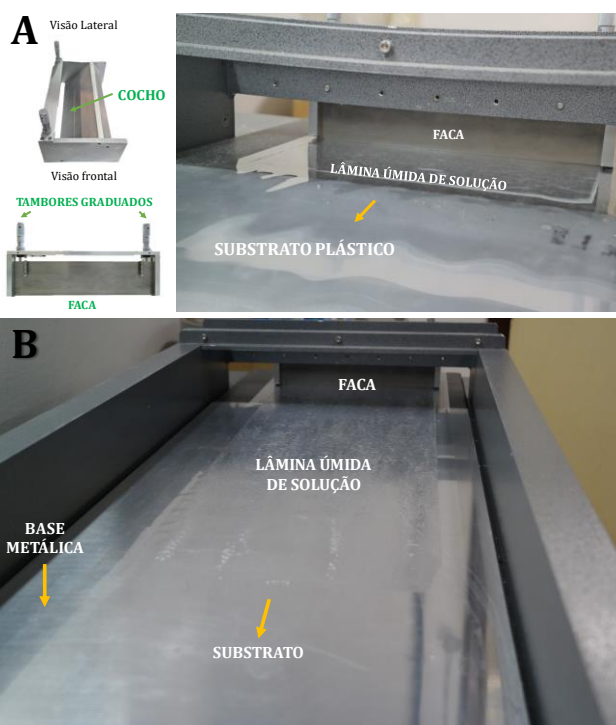


Figura 2. (A) Dispositivo de laminação. Visão lateral e frontal do dispositivo de laminação com destaque para o cocho, faca de laminação e tambores graduados. Ilustração da formação da lâmina úmida de solução amido. (B) Ilustração da secagem da lâmina úmida de solução amido.

## 2.2. Caracterizações

Os filmes de amido de batata foram caracterizados quanto à espessura, a qual foi determinada a partir de 10 medidas aleatórias ao longo do comprimento e largura dos filmes com um micrômetro digital Mitotoyo (Japão). Os filmes também foram caracterizados quanto ao comportamento ótico macroscópico utilizando uma câmera digital NK1000 (Samsung, South Korea).

### 3. Resultados e Discussão

Os filmes biodegradáveis de amido de batata foram produzidos por *casting* em batelada e *casting* contínuo a partir de soluções aquosas contendo glicerol e sorbitol a 20 m.%. A Tabela 1 resume os resultados de espessura e respectivos coeficientes de variação (CV), em particular na direção longitudinal e transversal do *casting* contínuo, além dos valores de produtividade.

Tabela 1. Caracterização da espessura dos filmes de amido de batata produzidos por *casting* contínuo.

Plastificante	Espessura ( $\mu\text{m}$ )	CV <sub>longitudinal</sub> (%)	CV <sub>transversal</sub> (%)	Produtividade ( $\text{m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$ )
<b>Batelada</b>				
Glicerol	41,1 $\pm$ 9,2	22,0	-	3,7 x 10 <sup>-5</sup>
Sorbitol	46,2 $\pm$ 8,9	19,3	-	3,7 x 10 <sup>-5</sup>
<b>Contínuo</b>				
Glicerol	31,9 $\pm$ 1,2	6,1	9,6	0,01
Sorbitol	35,2 $\pm$ 0,8	7,4	8,7	0,01

É possível notar a elevada produtividade do *casting* contínuo que foi em torno de 270 vezes maior em relação ao *casting* em batelada. Isto sugere que o primeiro processo é muito mais viável para produção dos filmes de amido de batata em larga escala. O *casting* contínuo foi também vantajoso em relação a uniformidade da espessura dos filmes. Como indicado na Tabela 1, o CV para o *casting* em batelada foi da ordem de 20 %, enquanto para o *casting* contínuo o CV foi inferior a 10 %, seja na direção longitudinal ou transversal do processo de *casting*. Dessa forma, é possível conciliar maior produtividade e melhor controle de espessura para os filmes de amido de batata quando os mesmos são produzidos por *casting* contínuo, independentemente do tipo de plastificante utilizado.

A Figura 3 ilustra o comportamento óptico dos filmes de amido de batata contendo glicerol e sorbitol a 20 m.%. Observa-se que os filmes foram macroscopicamente homogêneos, além de serem altamente transparentes.

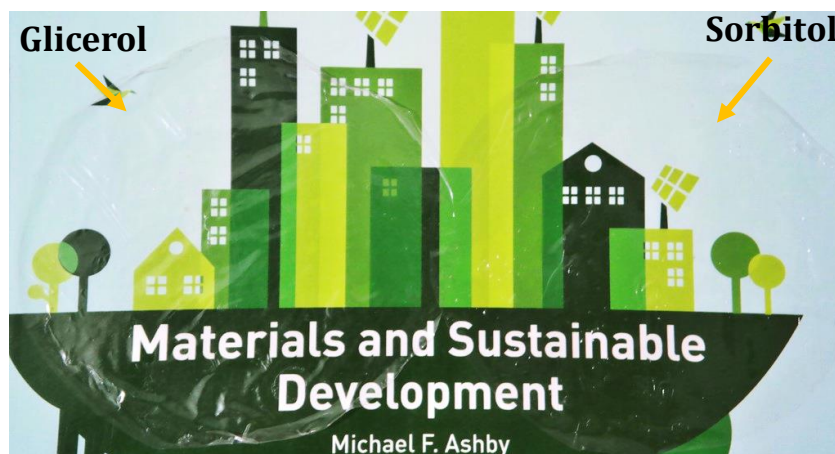


Figura 3: Aspecto óptico dos filmes de amido de batata produzidos por *casting* contínuo.

Testes preliminares indicaram que a transmitância e claridade, medidas com um hazímetro, desses filmes foi superior a 91 %. Este resultado indica um bom potencial desses filmes em aplicações como embalagens que requerem elevada transparência.

### 4. Conclusões

Filmes de amido de batata foram produzidos a partir do método *casting* contínuo com uma produtividade de aproximadamente 0,01 m<sup>2</sup> de filme min<sup>-1</sup>. O tempo de secagem neste processo é, pelo menos, 18 vezes inferior em comparação ao *casting* em batelada. Dessa forma, filmes de

amido de batata com boa homogeneidade e aspecto visual foram produzidos em escala pré-piloto com sucesso. Além disso, os filmes apresentaram boa flexibilidade para o teor de glicerol e sorbitol de 20 m.%, este último conferindo a melhor condição de manuseio para os filmes. Está em andamento a caracterização dos filmes de amido de batata por ensaios mecânicos de tração.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao DEMa/UFSCar pela infraestrutura utilizada neste trabalho. Os autores agradecem também ao Prof. Murilo C. Crovace pelo acesso à máquina de laminação TTC.

### **Referências**

- MOREIRA, F. K. V. Desenvolvimento de bionanocompósitos a partir de polissacarídeos e hidróxidos duplos lamelares. 2014. 168 p. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2014.
- MOREIRA, F. K. V.; PEDRO, D. C. A.; GLENN, G. M.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C., Brucite nanoplates reinforced starch bionanocomposites, *Carbohydrate Polymers*, 92, 1743– 1751, 2013.
- MUNHOZ, D.R.; MOREIRA, F. K. V.; BRESOLIN, J. D.; BERNARDO, M. P.; DE SOUSA, C. P.; MATTOSO, L. H. C. Sustainable Production and In vitro Biodegradability of Edible Films from Yellow Passion Fruit Co-products via Continuous Casting, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 6, 9883–9892, 2018.
- OGUNSONA, E.; OJOGBO, E.; MEKONNEN, T. Advanced material applications of starch and its derivatives, *European Polymer Journal*, v. 108, 570-581, 2018.
- THAKUR, R.; PRISTIJONO, P.; SCARLETT, C. J.; BOWYER, M.; SINGH, S. P.; VUONG, Q. V. Starch-based films: Major factors affecting their properties, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 132, 1079-1089, 2019.

**BIOSENSORES MICROFLUIDICOS APLICADOS NA DETECÇÃO DE MASTITE EM GADOS LEITEIROS**

A. C. Soares<sup>1,\*</sup>, J. C. Soares<sup>1</sup>, V. C. Rodrigues<sup>2</sup>, H.M. Brandão<sup>3</sup>, O. N. Oliveira Jr<sup>2</sup>, L. H. C. Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Instituto de Física de São Carlos (IFSC-USP), Av. Trabalhador São-carlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP

<sup>3</sup> Embrapa Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, 610, 36038-330, Juiz de Fora, MG

\* Autor correspondente, e-mail: andreycoatrini@gmail.com

**Resumo:** A necessidade de diagnósticos rápidos para detecção de doenças veterinárias motivou pesquisadores a desenvolver biossensores seletivos de baixo custo. Uma dessas doenças é a mastite, que leva a perdas consideráveis devido à produção reduzida de leite e possíveis mortes. Neste trabalho, biossensores microfluidicos foram fabricados com filmes poliméricos com diferentes números de bicamadas. Essas arquiteturas foram funcionalizadas com camada ativa para detecção de bactérias em amostras comerciais e de leite, usando espectroscopia de impedância elétrica. Os limites de detecção foram suficientes para detecção de rastros de bactérias e modelada pela isoterma de Langmuir-Freundlich. Técnicas de visualização de informações foram usadas para verificar a seletividade dos biossensores. Com o IDMAP, foi obtida maior distinção entre amostras comerciais e leite contendo bactérias com o filme LbL de maior número de bicamadas. O mecanismo de detecção foi elucidado usando espectroscopia PM-IRRAS, monitorando as bandas de amida I e II, respectivamente. Esses biossensores de baixo custo foram eficazes no diagnóstico e prognóstico da mastite e podem ser implementados na pecuária com transferência de tecnologia

**Palavras-chave:** biossensor, técnicas microfluídicas, mastite bovina

**MICROFLUIDIC BIOSENSORS APPLIED IN MASTITIS DETECTION IN DAIRY CATTLES**

**Abstract:** The need for rapid diagnosis of veterinary diseases has motivated research to develop low cost, selective biosensors. One of such diseases is Mastitis that leads to considerable losses owing to reduced milk production and possible animal deaths. In this work, we developed microfluidic biosensors made with LbL films with different numbers of bilayers. These molecular architectures were functionalized with active layer to detect bacterial colonies in milk and commercial samples using electrical impedance spectroscopy. The limits of detection were sufficient for detection of bacterial traces and modeled by the Langmuir-Freundlich isotherm. Information visualization techniques were used to analyze the spectra and verify the selectivity of biosensors. With IDMAP technique, higher distinction of commercial samples and milk with bacterias was obtained with the most bilayer number LbL film. The detection mechanism was elucidated using Polarization Modulated-Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy (PM-IRRAS) by monitoring the amide I and II bands, respectively. These low-cost biosensors are effective for mastitis diagnostics and prognostics in cattle, which may be further implemented in agriculture with technology transfer

**Keywords:** biosensor, microfluidic techniques, mastitis

**1. Introdução**

A necessidade de diagnósticos para detecção de doenças veterinárias com alto risco de transmissão tem motivado pesquisas em nanotecnologia e instrumentação agropecuária para

desenvolver biossensores altamente seletivos, de baixo custo e que detecte a doença rapidamente. Neste cenário, o rápido diagnóstico da mastite é a única possibilidade de aumentar as chances de cura do animal e diminuir prejuízos econômicos ao produtor relativos às alterações fisiológicas do rebanho e alteração da qualidade do leite, que pode levar o ser humano ao adoecimento físico através de graves infecções.

Um dos diagnósticos mais versáteis para detecção da Mastite, mas que carecem de aperfeiçoamento e qualidade são os biossensores eletroquímicos e elétricos, construídos a partir de filmes nanoestruturados poliméricos (ARIGA et al., 2019). São dispositivos miniaturizados que funcionam com base na detecção de interações específicas, no qual um elemento de reconhecimento biológico interage de modo seletivo em um meio complexo com a substância de interesse e um transdutor converte a resposta em um sinal mensurável (MOUSA, 2010). Os biossensores apresentam várias vantagens em relação aos métodos convencionais de sensoriamento (cromatografia e bioquímicos), tais como cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-MS) e o teste ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbant Assay), dentre elas o menor tempo de análise, fácil manuseio, menor custo, possibilidade de miniaturização, podendo ser portáteis e usados em análise em tempo real, podendo auxiliar na rápida detecção de doenças. Neste trabalho, biossensores de afinidade foram desenvolvidos a partir de filmes nanoestruturados poliméricos para detecção de rastros de bactérias presentes em amostras de leite originárias de gados infectados por Mastite.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Preparação dos Filmes Nanoestruturados

Filmes nanoestruturados foram preparados sobre eletrodos microfluídicos empregando a técnica de automontagem. Primeiramente, a solução de um polícatión foi injetada no microcanal do eletrodo, utilizando bombas de seringa com fluxo constante, seguido da imobilização do poliânion, usando as mesmas condições anteriores. Ambas as etapas são precedidas da lavagem para remoção de camadas fracamente adsorvidas. Após esta etapa, a camada ativa é imobilizada e os sítios ativos não específicos são bloqueados por uma solução de albumina de soro bovino (BSA) (SOARES et al., 2015a, 2015b).

### 2.2. Detecção de Mastite

A detecção de mastite foi realizada por medidas de espectroscopia de impedância elétrica. Após a imobilização da camada ativa, soluções aquosas de bactérias, com diferentes concentrações foram injetadas nos eletrodos como controle positivo, seguido de lavagem com água ultrapura para remoção de moléculas não adsorvidas. O mesmo procedimento foi utilizado para avaliar o controle de qualidade do leite, no qual amostras de leite com diferentes concentrações de bactérias e experimentos de controle com diferentes interferentes foram adsorvidos no eletrodo de trabalho para avaliar a eficiência do biossensor. Os espectros de capacitância foram utilizados para construir as curvas de calibração, analisar os parâmetros analíticos dos biossensores (limite de detecção) e desenvolver mapas de visualização que avaliam a seletividade do biossensor.

## 3. Resultados e Discussão

A espectroscopia de impedância elétrica foi realizada para detectar bactérias devido à forte interação específica entre a mesma e a camada ativa. Alterações elétricas foram melhor observadas em frequências abaixo de 1000 Hz, nas quais as alterações na dupla camada elétrica são induzidas pela interação camada ativa-bactéria. Essa interação altera as medidas elétricas, das quais são usadas na construção das curvas de calibração, mostrando que o número de sítios ativos disponíveis para adsorção das bactérias tende a zero com a concentração, porque sua interação com a camada ativa é irreversível. Os biossensores apresentaram LoD suficientes para detecção de rastros de bactérias em amostras de leite, uma vez que o valor é inferior à outros biossensores similares (WILSON et al., 2019). Dispositivos como estes detectam interações químicas entre a camada ativa

e as bactérias a partir de transdução do sinal. Essas interações geram excelente desempenho dos biossensores, porém é necessário elucidar o mecanismo de bioreconhecimento entre camada ativa e bactérias. Medidas de PM-IRRAS indicam que o mecanismo de detecção é governado por interações específicas que ocorrem nas regiões de amida I e II, sem haver mudança na orientação molecular dos dipolos.

A otimização do desempenho é fundamental para escolha das melhores condições de fabricação dos biossensores. Para isso, projeções multidimensionais a partir da técnica IDMAP foram usadas para avaliar a seletividade e comparar o desempenho dos dispositivos. Biossensores número maior de bicamadas possui melhor seletividade e distinção entre diferentes concentrações de bactérias. Tal seletividade pode ser quantificada pelo coeficiente de Silhueta (S), no qual  $S \sim 1$  indica que o sistema faz excelente distinção das amostras,  $S \sim 0$  e  $S \sim -1$  indicam que o sistema é ineficiente na distinção das amostras. Para os biossensores, os coeficientes de silhueta foram próximos a 1, corroborando a eficiência dos sensores nas distinções de amostras de bactérias.

#### 4. Conclusões

Filmes nanoestruturados poliméricos foram usados no desenvolvimento de biossensores para análise da qualidade do leite a partir da detecção de mastite bovina. A otimização do filme mostrou-se adequada, pois permitiu a escolha da melhor arquitetura para imobilização da camada ativa. Na detecção não foram observados falsos positivos quando o biossensor foi exposto à diferentes concentrações de bactérias. Além disso, a sensibilidade é suficiente para aplicações em análises veterinárias, sendo superior à maioria dos biossensores disponíveis para este fim. Outras contribuições importantes estão relacionadas ao uso de métodos de visualização de informações para comparar o desempenho de sensores e biossensores e a identificação do mecanismo de nível molecular responsável pela detecção. Com relação à comparação de unidades sensoriais, mapas de visualização de informações forneceram uma quantificação da seletividade das unidades sensoriais. Além disto verificou-se que o mecanismo de detecção está associado à interação específica entre camada ativa e bactéria, sendo comprovado por medidas de PM-IRRAS.

#### Agradecimentos

Este trabalho é financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processo nº 2018/18953-8), CNPq (Processo nº 402287/2013), SISNANO/MCTI e Rede AgroNano. Os autores são gratos ao Grupo de Polímeros Bernhard Gross (IFSC-USP) e aos pesquisadores do CNPEM Maria Helena Piazzetta e Angelo Gobbi pelo auxílio na confecção dos eletrodos.

#### Referências

- ARIGA, K. et al. Layer-by-Layer Assembly: Recent Progress from Layered Assemblies to Layered Nanoarchitectonics. **Chemistry – An Asian Journal**, v. 14, n. 15, p. 2553–2566, ago. 2019.
- MOUSA, S. Biosensors: the new wave in cancer diagnosis. **Nanotechnology, Science and Applications**, p. 1, dez. 2010.
- SOARES, A. C. et al. Controlled Film Architectures to Detect a Biomarker for Pancreatic Cancer Using Impedance Spectroscopy. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 7, n. 46, p. 25930–25937, 25 nov. 2015a.
- SOARES, A. C. et al. A simple architecture with self-assembled monolayers to build immunosensors for detecting the pancreatic cancer biomarker CA19-9. **The Analyst**, v. 143, n. 14, p. 3302–3308, 2018.
- SOARES, J. C. et al. Supramolecular Control in Nanostructured Film Architectures for Detecting Breast Cancer. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 7, n. 22, p. 11833–11841, 10 jun. 2015b.
- WILSON, D. et al. Electrical detection of pathogenic bacteria in food samples using information visualization methods with a sensor based on magnetic nanoparticles functionalized with antimicrobial peptides. **Talanta**, v. 194, p. 611–618, mar. 2019.

**BIOSENSORES POLIMÉRICOS NANOESTRUTURADOS APLICADOS PARA  
DIAGNÓSTICO DE MASTITE**

J. C. Soares<sup>1</sup>, A. C. Soares<sup>1</sup>, V. C. Rodrigues<sup>2</sup>, H. M. Brandão<sup>3</sup>, O. N. Oliveira Jr<sup>2</sup>, L. H. C. Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP*

<sup>2</sup> *Instituto de Física de São Carlos (IFSC-USP), Av. Trabalhador São-carlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP*

<sup>3</sup> *Embrapa Gado de Leite, Av. Eugênio do Nascimento, 610 - Aeroporto, Juiz de Fora – MG*

\* *Autor correspondente, e-mail: julianacoatrini@gmail.com*

**Resumo:** Biossensores para se detectar doenças relacionadas ao gado, é o principal foco deste trabalho. O intuito é o diagnóstico da Mastite para se determinar qual o antibiótico mais adequado a ser ministrado em curto espaço de tempo, evitando assim uma contaminação cruzada entre o rebanho. Esse biossensor é construído a partir de um filme polimérico, funcionalizado com proteínas. A superfície dos biossensores foi caracterizada a fim de se comprovar a modificação do eletrodo. Por meio de medidas elétricas, a mastite foi detectada com uma alta sensibilidade. Seguido da detecção, análises sobre a seletividade dos biossensores foram realizadas por meio de mapas de visualização de informações e análises estatísticas, o que permitiu otimizar as melhores condições e parâmetros das unidades sensoriais. A combinação dos resultados da caracterização e da detecção, permitiu identificar propriedades dos dispositivos, visando tanto a otimização do seu desempenho, quanto a sensibilidade e seletividade para a aplicação em rebanhos, com o intuito de se facilitar diagnósticos em um curto espaço de tempo, aumentando a sobrevivência do rebanho.

**Palavras-chave:** Filme nanoestruturado, mastite, biossensor.

***NANOSTRUCTURED POLYMERIC BIOSENSORS APPLIED FOR MASTITIS DIAGNOSIS***

**Abstract:** Biosensors to detect cattle-related diseases is the main focus of this work. The purpose is to diagnose mastitis to determine which antibiotic is most appropriate to be given in a short time, thus avoiding cross contamination between the cattle. This biosensor is constructed from a protein-functionalized polymeric film. The biosensors surface was characterized in order to prove the electrode modification and through electrical techniques, mastitis was detected with a high sensitivity. Following detection, biosensor selectivity analyzes were performed by means of information visualization maps and statistical analyzes, which allowed optimizing the best conditions and parameters of the sensory units. The combination of characterization and detection results allowed the identification of device properties, aiming at optimizing their performance as well as sensitivity and selectivity for application in cattle, in order to facilitate diagnosis in a short time, increasing the survival.

**Keywords:** Nanostructured film, mastitis, biosensor

**1. Introdução**

A presença de certas bactérias é uma das principais causas de mastite subclínica em bovinos leiteiros e também uma fonte de prejuízo econômico para a indústria, devido ao aumento do número de infecções causadas por certas cepas bacterianas resistentes a múltiplos fármacos. Para isso, surge-se então o uso de técnicas de detecção rápidas para serem aplicadas a essa bactéria, e, posteriormente, em áreas clínicas (JAMALI et al., 2018; CÔTÉ-GRAVEL et al.; 2019).

A Mastite em bovinos provoca uma inflamação nas glândulas mamárias devido a presença de microorganismos hospedeiros que vivem dentro da glândula<sup>3</sup>, que em sua forma subclínica, pode



ser persistente e, quando isso ocorre, uma grande quantidade de bactérias podem estar presentes no leite e serem fontes de infecções para outros rebanhos. Assim, há muitas perdas economicamente devido aos altos custos do tratamento, morte e diminuição da produção de leite e, ainda, a ocorrência do uso descontrolado de antibióticos para combatê-la, o que pode causar um aumento de estirpes de bactérias resistentes que podem entrar na cadeia alimentar (ADKINS et al., 2018).

Neste cenário, a aplicação de biossensores de baixo custo e de rápido diagnóstico fabricados a partir de nanocompósitos, juntamente com moléculas de proteínas, podem melhorar a sensibilidade e a seletividade do diagnóstico de Mastite, que é o objetivo deste trabalho. Além de técnicas convencionais de detecção, análises sobre a seletividade dos biossensores são realizadas por meio de mapas de visualização de informações e análises estatísticas, o que permite otimizar as melhores condições e parâmetros das unidades sensoriais.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Preparação dos Filmes Nanoestruturados

Os filmes nanoestruturados foram preparados sobre esses eletrodos interdigitados, empregando automontagem por adsorção química (SAM). Nestes tipos de filmes, eletrodos interdigitados foram imersos em soluções de quitosana durante 10 minutos, seguido da lavagem e secagem em temperatura ambiente, formando um filme fino estável que serviu de suporte para imobilização das camadas ativas para detecção de bactérias.

### 2.2. Detecção de Mastite a partir de moléculas de biomarcadores da bactérias *S. aureus*

Medidas elétricas foram realizadas para detectar amostras da bactéria *S. aureus*. Foram usados eletrodos interdigitados, funcionalizados por anticorpos Anti *S. aureus*, durante 30 min. Na próxima etapa, as bactérias foram adsorvidas em diferentes concentrações, para a construção das curvas de calibração a partir de dados de adquiridos durante as medidas elétricas.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Caracterização de filmes baseados no diagnóstico de mastite por PM-IRRAS

Os espectros de PM-IRRAS dos filmes contendo quitosana/ Anti- *S. aureus* adsorvidos em eletrodos interdigitados de ouro são apresentados na Figura 1. O espectro exibe as principais características de bandas de proteínas e aquelas relacionadas às bactérias. As principais bandas características presentes tiveram sua intensidade aumentada com a presença de bactérias. Isso prova a modificação do filme, durante as etapas de adsorção.

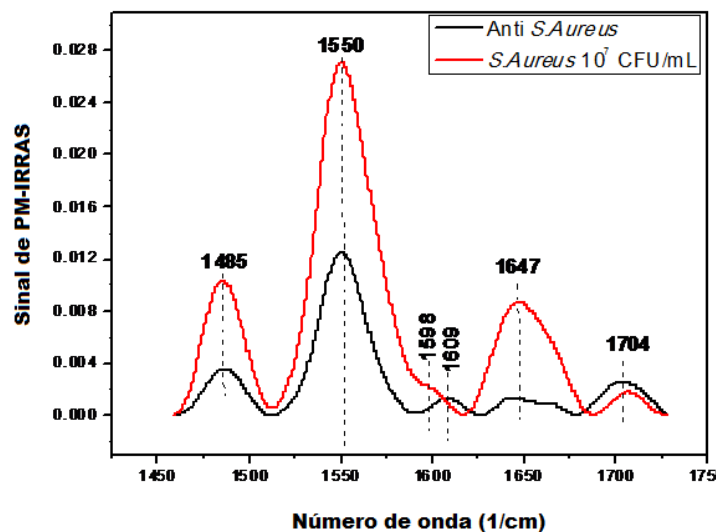


Figura 1. Espectros de PM-IRRAS para o filme de Chi / Anti-*S. aureus* e, em seguida, após exposição às amostras de *S. aureus* comercial.

### 3.2. Detecção Eletroquímica de *S. aureus* em amostras comerciais

Os dados de impedância eletroquímica indicam considerável dependência com a amostra contendo *S. aureus*. Houve uma variação da impedância, com a concentração de *S. aureus*. O limite de detecção foi estimado em 1UFC/mL, a partir do método da IUPAC ( $LOD = 3SB / S$ ), onde SB é o desvio padrão de 10 medidas tomadas a partir do sinal obtido do branco e S é o declive da curva de calibração.

### 3.3. Resultados estatísticos baseados no método PEX Sensor

Foram analisados cada espectro resultantes das detecções baseadas em impedância eletroquímica, originando o IDMAP. O IDMAP é representado como um ponto no gráfico 2D projetado. Amostras da mesma natureza se apresentam com uma distância pequena umas das outras e as que se diferem, se apresentam distantes. A Figura 2 mostra o gráfico de IDMAP baseado nos espectros de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica durante as detecções. As amostras contendo *S. aureus* foram distinguidas, cujos pontos de dados são deslocados para a direita com o aumento da concentração, corroborando com os resultados de impedância.

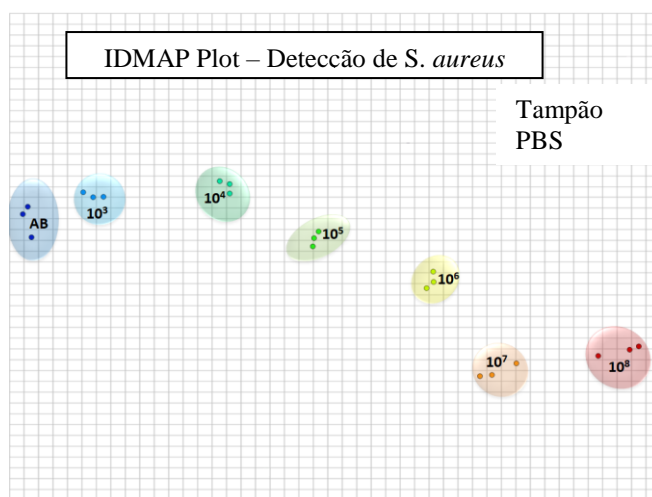


Figure 2. Gráfico de IDMAP a partir dos espectros impedância eletroquímica obtidos a partir de amostras de *S. aureus* comercial.

## 4. Conclusões

Partindo do objetivo inicial de que para combater a disseminação de infecções provocadas por bactérias resistentes, como a *S. aureus*, e ainda minimizar o desperdício de recursos públicos em tratamentos dispendiosos devido a demora em se iniciar um tratamento com antibióticos, novas estratégias para o desenvolvimento de um biossensor para diagnósticos para a detecção de *S. aureus* foram desenvolvidas neste trabalho. O diagnóstico foi feito em curto espaço de tempo, com alta especificidade e sensibilidade para detecção de colônias de *Staphylococcus aureus* em amostras comerciais, com um baixo limite de detecção.

## Agradecimentos

Este trabalho é financiado pelo CNPq (Processo nº 402287/2013 e 113757/2018-2), SISNANO/MCTI e Rede AgroNano. Os autores são gratos ao Grupo de Polímeros Bernhard Gross (IFSC-USP) e aos pesquisadores do CNPEM Maria Helena Piazzetta e Angelo Gobbi pelo auxílio na confecção dos eletrodos.

## Referências

- (1) Jamali, H.; Barkema, H. W.; Jacques, M.; Lavallée-Bourget, E.-M.; Malouin, F.; Saini, V.; Stryhn, H.; Dufour, S. Invited Review: Incidence, Risk Factors, and Effects of Clinical Mastitis

Recurrence in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* , v.101 . n. 6, p.4729–4746, 2018.

- (2) Côté-Gravel, J.; Malouin, F. Symposium Review: Features of *Staphylococcus Aureus* Mastitis Pathogenesis That Guide Vaccine Development Strategies. *Journal of Dairy Science*, v. 102 , n. 5, p. 4727–4740, 2019.
- (3) Adkins, P. R. F.; Middleton, J. R. Methods for Diagnosing Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.34 , n. 3, p.479–491,2018.

**NANOCOMPÓSITOS BASEADOS EM NANOCRISTAIS DE CELULOSE,  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA E NANOFIBRAS ELETROFIADAS: USO EM UMA  
LÍNGUA ELETRÔNICA PARA DETECÇÃO DE METAIS PESADOS**

Kelcilene B. R. Teodoro<sup>1,\*</sup>, Flávio M. Shimizu<sup>2</sup>, Vanessa P. Scagion<sup>1</sup>, Daniel S. Correa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> *Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicado ao Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil*

<sup>2</sup> *Laboratório Nacional de Nanotecnologia, Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais, 13083-970, Campinas, São Paulo, Brasil*

\* *Autor correspondente, e-mail: kbr.teodoro@gmail.com*

**Resumo:** A contaminação de recursos hídricos devido à presença de metais pesados têm se tornado um problema recorrente no Brasil e no mundo. O acúmulo destes compostos em organismos vivos pode ocasionar sérios problemas de saúde. Como consequência, o aprimoramento de técnicas capazes de fornecer um rápido e confiável diagnóstico da qualidade de recursos hídricos é altamente desejável. Os avanços nanotecnológicos aplicados ao desenvolvimento de novos materiais proporcionam melhorias consideráveis em dispositivos sensores capazes de detectar diferentes poluentes, mesmo sob concentrações extremamente baixas. Neste trabalho, avaliamos o desempenho de um arranjo sensorial do tipo Língua Eletrônica funcionalizado com nanocompósitos a base de nanofibras poliméricas obtidas por eletrofiação, nanocristais de celulose e nanopartículas de prata, na detecção elétrica de metais pesados em água. Esses três materiais foram combinados de maneira distinta, resultando em seis sensores diferentes, dispostos para compor uma língua eletrônica impedimétrica. A estrutura dos nanocompósitos pode ser elucidada por meio de técnicas como microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG). O ajuste dos parâmetros de sensoriamento e com auxílio de análise estatística foi possível discriminar-se de modo eficiente amostras de água pura de soluções contaminadas com chumbo, cádmio, cobre e níquel.

**Palavras-chave:** Contaminantes hídricos, Sensores, Eletrofiação, Celulose, Poliamida 6.

**NANOCOMPOSITES BASED ON CELLULOSE NANOWHISKERS, SILVER NANOPARTICLES AND ELECTROSPUN NANOFIBERS: USE IN AN ELECTRONIC TONGUE FOR HEAVY METAL DETECTION**

**Abstract:** Contamination of water resources with heavy metal ions has become a big issue in Brazil and in the world. The accumulation of these compounds in living organisms causes serious health problems. As a consequence, the development of sensitive and reliable sensors capable to provide fast and accessible analysis of water quality regarding heavy metals is highly keen. Nanomaterials advancements have provided considerable improvements in these sensors, enabling efficient detection of different water pollutants even at extremely low concentration. In this work, we evaluated the performance of an Electronic Tongue functionalized with nanocomposites based on electrospun nanofibers, cellulose nanowhiskers (CNW) and silver nanoparticles in electrical detection of heavy metals. These three materials were distinctly combined, resulting in six different sensors, which were arranged to compose an impedimetric electronic tongue. The nanocomposites structure was elucidated by techniques as scanning electron microscopy with field emission gun (FEG-SEM). Adjustments of sensors parameters and application of proper statistical analysis enabled the efficient discrimination of pure water from solutions contaminated with lead, cadmium, copper and nickel.

**Keywords:** Water contaminants, Sensors, Electrospinning, Cellulose, Polyamide 6.

## 1. Introdução

Um problema global relacionada à degradação dos recursos hídricos recai sobre a quantidade excessiva de espécies de metais pesados. Este problema geralmente está relacionado ao descarte inadequado de resíduos industriais. A importância do monitoramento da presença e quantificação de metais pesados em recursos destinados para o consumo atraiu grande atenção no Brasil devido a recentes desastres ecológicos envolvendo rupturas de barragens de mineração, que levaram à contaminação de importantes bacias hidrográficas do país com uma quantidade preocupante de lama contendo íons de metais como ferro, manganês, chumbo, mercúrio, cobre, entre outros. Como esses poluentes não são biodegradáveis, os organismos vivos e a saúde humana podem ser seriamente afetados como consequência da bioacumulação (JOSE; RAY, 2018). Embora alguns desses compostos tenham um papel importante nos mecanismos biológicos, a maioria deles é tóxica mesmo em baixas concentrações, resultando em doenças graves, mutações e até morte por envenenamento (TCHOUNWOU et al., 2012).

Os avanços relacionados ao desenvolvimento e melhoramento de dispositivos sensores têm atraído grande atenção como uma ferramenta para aplicação destes no monitoramento ambiental, fornecendo diagnósticos rápidos e confiáveis como alternativa à técnicas espectroscópicas e cromatográficas convencionais, permitindo a detecção de poluentes sob concentrações extremamente baixas (TERRA et al., 2017). Isso ocorre como consequência do aumento da área superficial da camada sensativa e a amplificação dos sinais, o que pode ser alcançado com aplicação de novos materiais e técnicas advindas dos avanços nanotecnológicos.

Neste trabalho, nanocompósitos à base de fibras de poliamida (PA6), nanocristais de celulose (CNC) e nanopartículas de prata (AgNP) foram utilizados na funcionalização de camadas sensativas visando a detecção de baixas concentrações de metais pesados em água. Poucas pesquisas podem ser encontradas na literatura relatando a inserção do CNC em sensores elétricos e eletroquímicos, com a natureza não condutora dessas nanoestruturas. No entanto, um número crescente de estudos está investigando as propriedades de compósitos baseados no CNC e em vários nanomateriais funcionais, o que permite uma alta dispersão do material funcional pela superfície do CNC, contribuindo significativamente para a exploração de suas propriedades (MORALES-NARVÁEZ et al., 2015; TEODORO et al., 2019a).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Produção e caracterização dos nanocompósitos

CNW, AgNP e CNW: Ag foram sintetizados como descrito em trabalho prévio (TEODORO et al., 2018). Os nanocompósitos foram produzidos empregando-se eletrofição, combinando-se as diferentes nanoestruturas da seguinte maneira: i) fibras PA6, ii) fibras de PA6 e CNW no bulk da fibra, iii) fibras de PA6 com CNW:Ag no bulk, iv) fibras de PA6 revestidas com CNW:Ag e v) PA6/CNW revestidas com AgNP. As amostras (i - iii) foram produzidas por eletrofição da solução de PA6 (10% m/v) e uma mistura da solução de PA6 e CNW ou CNW:Ag (1% m/v), empregando-se ácido fórmico como solvente. Os parâmetros experimentais aplicados foram: taxa de injeção de solução de  $10 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ , campo elétrico de 20 mV, distância de trabalho entre o coletor e a ponta do capilar de 5,0 cm, tempo de deposição em eletrodo de 7 minutos. As amostras (iv -v) foram obtidas por imersão das nanofibras (i) e (ii) em soluções aquosas de CNW:Ag e AgNP. Os nanocompósitos foram caracterizados em termos morfológicos por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG).

### 2.2. Montagem da Língua Eletrônica e detecção de metais pesados em água

Os nanocompósitos foram depositados sobre eletrodos interdigitados (EI) de ouro, os quais eletrodos são compostos de 50 pares de dígitos, com  $10 \mu\text{m}$  de largura e  $10 \mu\text{m}$  de distância entre os dígitos, 3 mm de comprimento e espessura de 120 nm. O arranjo sensorial do tipo língua eletrônica foi constituído das seguintes unidades: i) EI sem filme; ii) PA6, iii) (PA6/CNC)<sub>bulk</sub>, iv) (PA6/CNC:Ag)<sub>bulk</sub>, v) (PA6)<sub>mod.CNC:Ag</sub> e vi) (PA6/CNC)<sub>mod.Ag</sub>.

As soluções investigadas foram preparadas a partir da adição, em solução-tampão acetato, de diferentes metais pesados ( $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ), conforme mostradas a seguir: i)  $\text{H}_2\text{O}$  (deionizada), ii) chumbo  $\text{Pb}^{2+}$ , iii) cádmio  $\text{Cd}^{2+}$ , iv) cobre  $\text{Cu}^{2+}$  e v) níquel  $\text{Ni}^{2+}$ . As plataformas resultantes foram analisadas por espectroscopia de impedância, usando um analisador de frequência e fase SOLARTRON, modelo 1260 A, e o software SMaRT 3.3.1. (Solartron Materials Research and Test). Foi realizado o modo de varredura de frequência ( $1 \text{ MHz} - 1 \text{ Hz}$ ), aplicando-se tensão de  $25 \text{ mV}$ . Foram realizadas três medidas por eletrodo, utilizando-se três unidades de cada plataforma. Dados de capacitância foram extraídos e interpretados estatisticamente utilizando-se as técnicas de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e coordenadas paralelas (PC), utilizando o software PEx Sensors.

### 3. Resultados e Discussão

As micrografias de MEV-FEG apresentadas na figura 1 (TEODORO et al., 2019b) referem-se às morfologias dos nanocompósitos produzidos pelas diferentes combinações de nanofibras de PA6, CNC e AgNP. Foi verificada a diminuição dos diâmetros das fibras, como resultado da incorporação de CNC e CNC:Ag, dado pelo aumento da condutividade da solução, devido à presença de nanoestruturas com cargas superficiais negativas (DONG et al., 2013). Isto também resulta em uma superfície mais regular, como observado para as amostras  $(\text{PA6/CNC})_{\text{bulk}}$  e  $(\text{PA6/CNC:Ag})_{\text{bulk}}$ , em relação à rugosidade. CNC e CNC:Ag não foram visualizados nestas amostras, indicando que essas nanoestruturas encontram-se incorporadas ao polímero, dado à compatibilidade CNW e PA6 (CORREA et al., 2014). A figura 1(d) evidencia o recobrimento das fibras pelo híbrido CNC:Ag, e a ausência de aglomerados de AgNP revelam a boa dispersão do material no nanocompósito  $(\text{PA6})_{\text{imCNC:Ag}}$ . Em contrapartida, no nanocompósito  $(\text{PA6/CNW})_{\text{imAg}}$  são encontrados AgNP aglomeradas em regiões aleatórias das fibras.

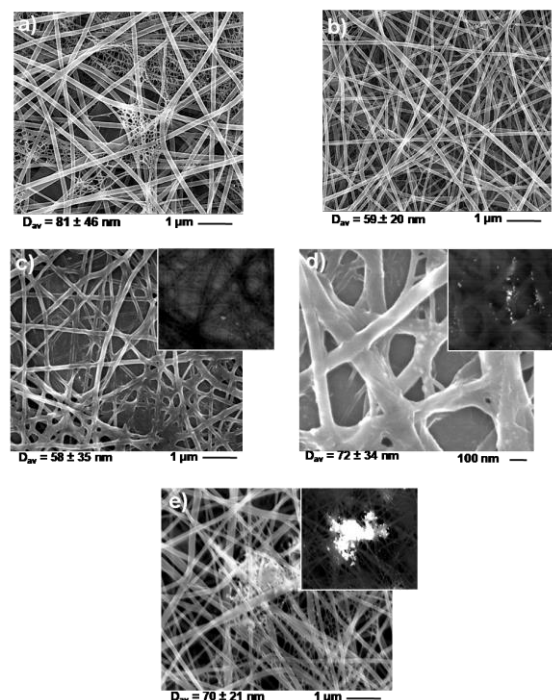


Figura 1. Micrografias das fibras de PA6 puro (a) e dos nanocompósitos  $(\text{PA6/CNC})_{\text{bulk}}$  (b),  $(\text{PA6/CNC:Ag})_{\text{bulk}}$  (c),  $(\text{PA6})_{\text{mod.CNC:Ag}}$  (d) e  $(\text{PA6/CNC})_{\text{mod.Ag}}$  (e). Magnificação de 20.000x (a-c) e 80.000x (d-e). Figura reproduzida com autorização de (TEODORO et al., 2019b). Copyright (2019) Elsevier.

Sistemas do tipo língua eletrônica são constituídos de um arranjo de unidades sensoriais empregado para discriminar amostras líquidas ou em solução. As diferentes unidades sensoriais

preparadas usando os nanocompósitos foram empregadas para detectar diferentes íons de metais pesados em soluções aquosas. Portanto, os dados experimentais referentes à detecção de diferentes metais como solução iônica de  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$  a  $1 \text{ mmol.L}^{-1}$ . Análise estatística empregando-se a técnica de PLS gerou o gráfico apresentado na Figura 2 (TEODORO et al., 2019b), e o elevado coeficiente de silhueta (CS) igual a 0,99 indica forte classificação de dados (ROUSSEEUW, 1987).

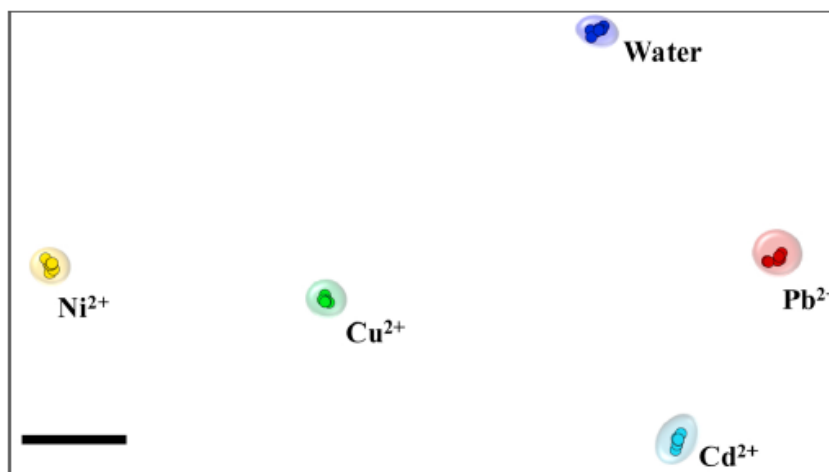


Figura 2. Gráfico PLS representativo da classificação de amostras de água pura e contaminadas com íons de diferentes metais pesados, na concentração de  $1 \text{ mmol.L}^{-1}$ . O coeficiente de silhueta determinado foi de 0,98. Figura reproduzida com autorização de (TEODORO et al., 2019b). Copyright (2019) Elsevier.

#### 4. Conclusões

Nanocompósitos ternários foram produzidos por distintas combinações de nanofibras eletrofiadas de PA6 funcionalizadas com CNW e AgNP. A análise morfológica revelou que as nanoestruturas CNC e CNC:Ag foram eficientemente incorporadas ao bulk das fibras nas amostras  $(\text{PA6/CNC})_{\text{bulk}}$  e  $(\text{PA6/CNC:Ag})_{\text{bulk}}$ . Para as amostras  $(\text{PA6})_{\text{mod.CNC:Ag}}$  verificou-se que as fibras foram recobertas pelo híbrido CNC:Ag, o que promoveu uma melhor dispersão do material funcional no filme, em comparação à amostra  $(\text{PA6/CNC})_{\text{mod:Ag}}$ , uma vez que, nesta amostra, as nanopartículas de prata aglomeraram-se em regiões aleatórias. A deposição destes nanocompósitos sobre eletrodos interdigitados possibilitou a configuração de um arranjo sensorial do tipo língua eletrônica. Esta estratégia possibilitou o desempenho adequado da língua eletrônica na avaliação e classificação de água pura e soluções contaminadas com diferentes metais pesados, dentre eles o chumbo, cádmio, cobre e níquel.

#### Rights and contents

O conteúdo deste trabalho foi adaptado do artigo científico intitulado: "Ternary nanocomposites based on cellulose nanocrystals, silver nanoparticles and electrospun fibers: use in an electronic tongue for heavy metal detection", produzido por KBR Teodoro, FM Shimizu, VP Scagion, DS Correa, e recentemente publicado na revista científica *Sensors and Actuators B: Chemistry* 2019, 290, 387-395.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da FAPESP (2012/15543-7, 2014/21184-5 e 2017/12174-4), CNPq (153612/2018-5), MCTI-SisNano, FINEP e Embrapa AgroNano. Também agradecemos a Angelo L. Gobbi e Maria H. O. Piazzetta pela assistência no laboratório de microfabricação do LMF / LNNano / CNPEM, e ao Dr. Osmando Ferreira Lopes pela assistência na obtenção de imagens de MEV-FEG.

**Referências**

- CORREA, A. C. et al. Obtaining nanocomposites of polyamide 6 and cellulose whiskers via extrusion and injection molding. **Cellulose**, v. 21, n. 1, p. 311–322, 2014.
- DONG, H. et al. Hydrogel, aerogel and film of cellulose nanofibrils functionalized with silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 2, p. 760–767, 2013.
- JOSE, A.; RAY, J. G. Toxic heavy metals in human blood in relation to certain food and environmental samples in Kerala, South India. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 8, p. 7946–7953, 2018.
- MORALES-NARVÁEZ, E. et al. Nanopaper as an Optical Sensing Platform. **ACS Nano**, v. 9, n. 7, p. 7296–7305, 2015.
- ROUSSEEUW, P. J. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. **Journal of Computational and Applied Mathematics**, v. 20, p. 53–65, 1987.
- TCHOUNWOU, P. B. et al. Heavy Metals Toxicity and the Environment. **Molecular, Clinical and Environmental Toxicology**, v. 101, p. 133–164, 2012.
- TEODORO, K. B. R. et al. Cellulose Whiskers Influence the Morphology and Antibacterial Properties of Silver Nanoparticles Composites. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 18, n. 7, p. 1–8, 2018.
- TEODORO, K. B. R. et al. Conductive electrospun nanofibers containing cellulose nanowhiskers and reduced graphene oxide for the electrochemical detection of mercury(II). **Carbohydrate Polymers**, v. 207, p. 747–754, 2019a.
- TEODORO, K. B. R. et al. Ternary nanocomposites based on cellulose nanowhiskers, silver nanoparticles and electrospun nanofibers: Use in an electronic tongue for heavy metal detection. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 290, p. 387–395, 2019b.
- TERRA, I. A. A. et al. Optically active electrospun nanofibers for heavy metals sensing. p. 1–17, 2017.



**DETERMINAÇÃO DE FEROMÔNIOS QUE SERVIRÃO DE PARÂMETRO NA INVESTIGAÇÃO DE SENSORES ELETRÔNICOS PARA A SEXAGEM DE PIRARUCUS**Tucunduva de Faria M.<sup>1,\*</sup>, Paterno, L.G.<sup>2</sup>, Fonseca F.J.<sup>3</sup><sup>1</sup> Embrapa Amazônia Oriental, Tv. Dr. Enéas Pinheiro - Curió Utinga, 66095-903, Belém - PA<sup>2</sup> Universidade de Brasília, Instituto de Química, Campus Universitário Darcy Ribeiro. Brasília, DF, 70910-900<sup>3</sup> Universidade de São Paulo, Escola Politécnica, Depto de Engenharia de Sistemas Eletrônicos, Av. Prof. Luciano Gualberto, travessa 3, 158 - Butantã, 05508-010, São Paulo - SP

\* Autor correspondente, e-mail: marcos.tucunduva@embrapa.br

**Resumo:** O pirarucu (*Arapaima gigas*) é um peixe de grande importância para a região amazônica. Sua carne de sabor e consistência peculiares é um produto requisitado pela alta gastronomia e seu couro, maleável e resistente, é utilizado em calçados e bolsas de alto padrão. Os feromônios são utilizados pelos peixes para mediar uma série de respostas fisiológicas e comportamentais. Aproximadamente duas dezenas de feromônios foram identificados em peixes, onde as principais classes de componentes são os esteroides e as prostaglandinas. Os peixes liberam uma grande variedade de feromônios na água, nas formas livres, glucuronadas e sulfatadas, pelas brânquias, fezes, urina e alguns até por glândulas anais. Nos peixes o principal andrógeno é a 11-cetotestosterona, que geralmente é mais eficiente no desenvolvimento das características sexuais secundárias e comportamento reprodutivo dos machos do que a testosterona. Fêmeas de pirarucu apresentaram uma tendência de produção de 17 beta estradiol ao longo de um período anual. O presente projeto visa a construção de sensores eletrônicos capazes de indicar o sexo desses animais construindo um arranjo de sensores, funcionando simultaneamente como uma língua eletrônica para a identificação dos hormônios sexuais e diferenciação do sexo do *A. gigas*.

**Palavras chaves:** sexagem, pirarucu, *Arapaima gigas*, língua eletrônica, grafeno, nanotecnologia

**DETERMINATION OF PHEROMONES THAT WILL SERVE AS A PARAMETER IN THE INVESTIGATION OF ELECTRONIC SENSORS FOR PIRARUCUS SEXING**

**Abstract:** Pirarucu (*Arapaima gigas*) is a fish of great importance for the Amazon region. Its meat of peculiar flavor and consistency is a product demanded by the high gastronomy and its leather malleable and resistant is used in shoes and bags of high standard. Fish to mediate a series of physiological and behavioral responses use pheromones. Approximately two dozen pheromones have been identified in fish, where the major classes of components are steroids and prostaglandins. Fish release a wide variety of pheromones in water, in free, glucuronated and sulfated forms, through gills, feces, urine and some even through anal glands. In fish, the main androgen is 11-ketotestosterone, which is generally more effective in developing male secondary sexual characteristics and reproductive behavior than testosterone. Pirarucu females showed a production trend of 17-beta estradiol over an annual period. The present project aims to build electronic sensors capable of indicating the sex of these animals by building a sensor array, functioning simultaneously as an electronic language for the identification of sex hormones and sex differentiation of *A. gigas*.

**Keywords:** sexing, pirarucu, *Arapaima gigas*, electronic tongue, graphene, nanotechnology.

**1 Introdução**

Os feromônios são utilizados pelos peixes para mediar uma série de respostas fisiológicas e comportamentais, como sincronicidade endócrinológica, orientação migratória, excitação sexual,

atração e agressão. Aproximadamente duas dezenas de feromônios foram identificados em peixes, onde as principais classes de componentes são os esteróides e as prostaglandinas. Os esteróides são um grande grupo de compostos solúveis em gordura que têm uma estrutura básica de 17 átomos de carbono dispostos em quatro anéis ligados entre si. Vários tipos de esteróides podem ser identificados no plasma de peixes (BYKOVA *ET AL.*, 2010). As prostaglandinas são ácidos graxos modificados, frequentemente derivados de lipídios da membrana plasmática. Dentre os esteróides existem os esteróides sexuais masculinos que são chamados andrógenos, que estimulam ou controlam o desenvolvimento e manutenção das características masculinas em vertebrados; e também os estrogênios que são uma designação genérica dos hormônios cuja ação está relacionada com o controle da ovulação e com o desenvolvimento de características femininas. Os peixes liberam uma grande variedade de feromônios na água, nas formas livres, glucuronadas e sulfatadas, pelas brânquias, fezes, urina e alguns até por glândulas anais.

Nos peixes o principal andrógeno é a 11- cetotestosterona, que geralmente é mais eficiente no desenvolvimento das características sexuais secundárias e comportamento reprodutivo dos machos do que a testosterona. Machos da espécie *Salaria pavo*, nome comum, marachomba-pavão são estimulados a produzir quantidades de outros feromônios através de suas glândulas anais pela estimulação através da 11-cetotestosterona (BARATA *ET AL.*, 2008, SERRANO *ET AL.*, 2008). O feromônio 3-ceto-petromyzon-24-sulfato (3kPZS) é liberado por machos da espécie *Petromyzon marinus*, conhecidas como lampreias marinhas ou peixes vampiros (Chung-davidson, *et al.*, 2015). Estudos com a tilápia Moçambique (*Oreochromis mossambicus*) determinaram que os machos liberam duas formas epiméricas do feromônio (20a- e 20b-) pregnanetriol 3-glucuronate (KELLER-COSTA *ET AL.*, 2014). ARBUCKLEA *ET AL.*, 2005 determinaram que machos da espécie *Neogobius melanostomus* liberam esteróides com a configuração andostreno-4-ene ou 5-andostreno, mais especificamente o 5 beta reduzido de androsterona. Machos maduros de kingos também liberaram grandes quantidades de androstenediona (SORENSEN *ET AL.*, 2005). Nas fêmeas o 17 $\alpha$  estradiol está relacionado a produção de vitelogenina, a 17 $\alpha$ ,20-dihydroxypregn-4-en-3-one na indução da maturação final do ovócito. Estudos realizados com o peixe acerina eurasiática (*Gymnocephalus cernuus*) determinaram a liberação de 4-pregnen-17,20b,21-triol-3-one (20b-S) pelas suas fêmeas (SORENSEN *ET AL.*, 2004). Nas carpas comuns (*Cyprinus carpio*) foram encontradas prostaglandinas, na mistura de hormônios pós ovulatórios, como a prostaglandina F2 $\alpha$ . Fêmeas de pirarucu apresentaram uma tendência de produção de 17 beta estradiol ao longo de um período anual (MONTEIRO *ET AL.*, 2010). Desta forma, a literatura nos respalda a escolha inicial de alguns feromônios que usaremos para a investigação de uma possível liberação por *A. gigas* adultos e uma inicial padronização dos sensores eletrônicos. Na escolha foram levadas em consideração a disponibilidade do feromônio sintético e de teste diagnóstico ELISA, sendo assim foram escolhidos os feromônios cortisol, 11- cetotestosterona, androstenediona, 3-ceto petromyzonol sulfato, 17 beta estradiol, 17alfa-hidroxi-progesterona e a prostaglandina F2 alfa.

## 2 Materiais e métodos

Para a detecção dos feromônios foram construídos sensores químicos com micro eletrodos interdigitados de ouro, sobre os quais os filmes de materiais orgânicos foram depositados, e foi montado um arranjo multissensorial do tipo Língua Eletrônica (Braga 2006). Estes sensores foram conectados a um multiplexador de sinais para a medida da indutância, capacitância e resistência através de um medidor de impedância. (LCR meter).

Para a realização de testes de sensibilidade foi adquirido 1 mg de beta estradiol gama irradiado (Sigma-Aldrich ®) e diluído em água ultrapura (Milli-Q®) em uma solução estoque de 5  $\mu\text{g/ml}$  de solução. Após isso, foram realizadas diluições seriadas em dois ensaios separados: de 1 e 5  $\mu\text{g/ml}$  e de 10 e 100 ng/ml. As diluições foram testadas para a medição de impedância em uma Língua Eletrônica utilizando sensores químicos com polímeros condutores, grafeno e materiais inorgânicos.

Os materiais utilizados como sensores de hormônios foram sintetizados a base de óxidos de

grafenos e seus compósitos com cerâmicas e polímeros semicondutores. Utilizar-se-ão óxidos de metais de transição ácidos, básicos e cátions orgânicos adicionados a óxido de grafeno em solução aquosa. Utilizar-se-ão compósitos de grafenos hidrofóbicos também com os mesmos cátions orgânicos e óxidos de metais de transição. Os compósitos serão posteriormente reduzidos por tratamentos hidrotérmicos em solventes orgânicos pouco voláteis em temperaturas de 150 °C. A escolha do óxido de grafeno se deu por ser um material de fácil preparação. Além disso, permite a confecção de dispersões aquosas simples que podem ser dopadas pelos cátions precursores ou por nanopartículas das cerâmicas e pelos polímeros semicondutores selecionados experimentalmente, consistindo em dispersões precursoras. Essas devido à reologia similar são depositadas muito facilmente na forma de filmes por técnicas simples tais como “spin coating”, “deep coating” ou mesmo secagem da dispersão sob o substrato desejado. A dopagem com diferentes polímeros e cerâmicas visa à confecção de sensores com diferentes propriedades ácido-base, hidrofílico/hidrofóbico e, portanto, respostas distintas a cada um dos hormônios a serem testados e determinados.

A análise dos resultados será feita através de análise multivariada, com interface computacional, a partir de sinais obtidos a partir de uma interface utilizando o software “labview” e Fast 3 e geração em de gráficos “on line”.

### 2.1 Delineamento experimental

Inicialmente foram pesquisados na literatura internacional quais os hormônios mais predominantes para machos e fêmeas de teleósteos. Foram elencados os seguintes: a 11-cetotestosterona (11-KT), a androstenediona, 3-ceto-petromyzon-24-sulfato (3kPZS) o 17 beta estradiol (E2), a 17 alfa-hidroxi-progesterona (17 aHP), a prostaglandina F2 alfa (PGF 2 alfa) e o cortisol. Com isso foram desenvolvidos sensores eletrônicos a base de polímeros semicondutores para testar esses hormônios no laboratório de Eletrônica Molecular da Engenharia Elétrica USP. Os testes nos sensores eletrônicos foram conduzidos pelo pesquisador da Embrapa com o hormônio beta estradiol gama irradiado.

## 3 Resultados e discussão

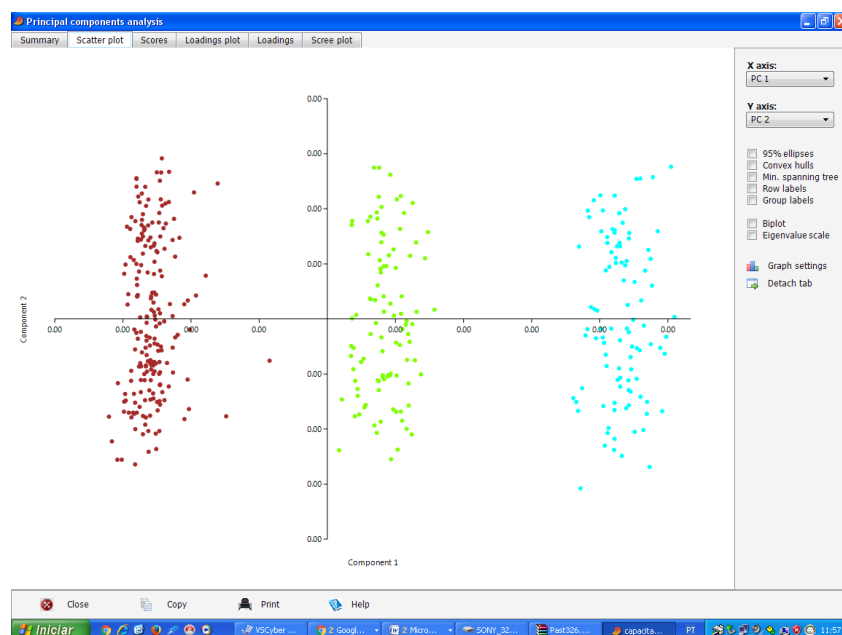


Figura 1. Determinação da capacitância do beta estradiol na língua eletrônica. Em azul celeste: água ultrapura (Milli-Q®). Em marrom: 10 ng/ml de beta estradiol (duas amostras). Em verde: 100 ng/ml de beta estradiol. Em um total de 100 (cem) leituras por amostra.

O sistema denominado aqui de Língua Eletrônica é um grupo de sensor não específicos (WIZIACK 2005, BRAGA 2006) ligados a um multiplexador, que chaveia cada sensor para a medida de impedância num impedancímetro de precisão. Posteriormente os dados são submetidos a uma análise estatística do tipo PCA, utilizando o software PAST 3.0.

Os resultados iniciais mostraram-se promissores (Figura 1 e 2). Iremos agora repetir os ensaios em sessões multivariadas para termos convicção de que os sensores realmente estão lendo o feromônio, testar mais feromônios e partir para análise de amostras biológicas (plasma de pirarucus machos e fêmeas). A determinação da presença de estradiol no plasma das fêmeas de pirarucu é a partir de 50 ng/ml (MONTEIRO *et al.*, 2010).

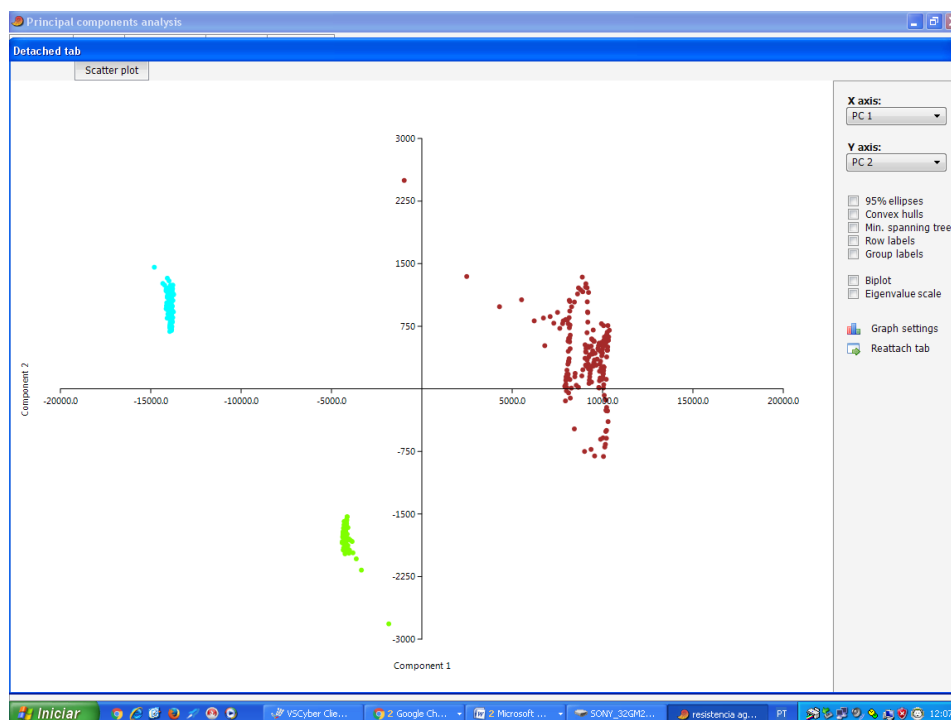


Figura 2. Determinação da resistência do beta estradiol na língua eletrônica. Em azul celeste: água ultrapura (Milli-Q<sup>®</sup>). Em marrom: 10 ng/ml de beta estradiol (duas amostras). Em verde: 100 ng/ml de beta estradiol. Em um total de 100 (cem) leituras por amostra.

#### 4 Conclusões

A língua eletrônica mostrou-se adequada para a determinação de diluições de 10 a 100 ng/ml de beta estradiol, feromônio encontrado nas fêmeas de pirarucu.

#### Agradecimentos

O presente trabalho foi financiado com recurso da Emprapa (projeto inicial 04.16.05.007.00.00, depois 24.16.05.007.00.00) e recursos do Edital de pesquisa Banco da Amazônia 2015, gerido pela FADESPA 3737\*3) e FAPESP 13/50440-7.

#### Referências bibliográficas

- ARBUCKLEA WJ, BÉLANGERA AJ, CORKUMA LD, ZIELINSKIA BS, LIB W, YUN S, BACHYNSKIA S, SCOTT AP. In vitro biosynthesis of novel 5<sub>α</sub>-reduced steroids by the testis of the round goby, *Neogobius melanostomus* General and Comparative Endocrinology 140 1–13, 2005.
- BARATA EN, SERRANO RM, MIRANDA A, NOGUEIRA R, HUBBARD PC, CANÁRIO AVM. Putative pheromones from the anal glands of male blennies attract females and enhance male reproductive success. *Animal Behaviour*, 75: 379-389, 2008.

- BRAGA, G.S.; et al.; Influence of the deposition parameters on the morphology and electrical conductivity of PANI/PSS self-assembled films; *Mat. Sci. And Eng. C* 28 (2008) 555-562.
- BYKOVA L, ARCHER-HARTMANN SA, HOLLAND LA, IWANOWICZ LR, BLAZER VS. Steroid determination in fish plasma using capillary electrophoresis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 29, No. 9, pp. 1950–1956, 2010.
- KELLER-COSTA T, HUBBARD PC, PAETZ C, NAKAMURA Y, SILVA JP, RATO A, BARATA EN, SCHNEIDER B, CANARIO AVM. Report identity of a tilapia pheromone released by dominant males that primes females for reproduction *Current Biology* 24, 2130–2135, 2014.
- MONTEIRO, L. B. B. Caracterização do crescimento, reprodução e perfil hormonal dos esteróides sexuais do pirarucu, *Arapaima gigas* (Schinz, 1822), em condições de cativeiro. 2005. 82 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- SORENSEN PW, MURPHY CA, LOOMIS K, MANIAK P, THOMAS P. Evidence that 4-pregnen-17,20b,21-triol-3-one functions as a maturation-inducing hormone and pheromonal precursor in the percid fish, *Gymnocephalus cernuus* *General and Comparative Endocrinology* 139: 1–11 2004.
- SORENSEN PW, PINILLOS M, SCOTT AP. Sexually mature male goldfish release large quantities of androstenedione into the water where it functions as a pheromone *General and Comparative Endocrinology* 140:164–175, 2005.
- SERRANO RM, LOPES O, HUBBARD PC, ARAÚJO J, CANÁRIO AVM, BARATA EN. 11-Ketotestosterone Stimulates Putative Sex Pheromone Production in the Male Peacock Blenny, *Salarias pavo* (Risso 1810) *Biology of Reproduction* 79, 861–868, 2008.
- WIZIACK, N.K.L.; Estudo do desempenho de uma língua eletrônica baseada em materiais nanoestruturados; Dissertação de Mestrado, EPUSP, São Paulo (2005).

**EFEITO NAS PROPRIEDADES TÉRMICAS DA CONCENTRAÇÃO DE TITANATO DE BÁRIO EM NANCOMOPÓSITOS COM BORRACHA NATURAL**

Suelen Zenatti<sup>1,2</sup>, Thaiany Savarez<sup>1,2,\*</sup>, Elaine Cristina Paris<sup>2</sup>, Erivaldo J. Scaloppi Jr<sup>3</sup>, Paulo de Souza Gonçalves<sup>4</sup>, Maria Alice Martins<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, Km 32 SP-310, 13565-905, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452, 13561-206, São Carlos, SP

<sup>3</sup> Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais/IAC, Votuporanga, SP

<sup>4</sup> Instituto Agrônômico (IAC)/Embrapa, Avenida Barão de Itapura, 1481, 13020-902, Campinas, SP

\* Autor correspondente, e-mail: tsavarez@mai.com

**Resumo:** Nanocompósitos são materiais híbridos, nos quais pelo menos um de seus componentes tem dimensões nanométricas. O titanato de bário é um material ferroelétrico com diversas aplicações dentro do mercado de componentes eletrônicos. A borracha natural é uma importante matéria-prima agrícola, sendo considerada estratégica. Desta forma, o desenvolvimento de novos materiais a partir deste produto renovável é de grande interesse nacional. O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento e caracterização térmica de nanocompósitos de borracha natural do clone RRIM 600 e nanopartículas de titanato de bário ( $\text{BaTiO}_3$ ). Os nanocompósitos foram caracterizados através de termogravimetria (TG/DTG), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados mostraram que a adição do titanato de bário aumentou a estabilidade térmica dos materiais. Não foi observado influência da variação da concentração de titanato de bário na temperatura de transição vítrea dos nanocompósitos, sendo o valor obtido de cerca de  $-63\text{ }^\circ\text{C}$  para todos os materiais. Os nanocompósitos apresentaram uma boa dispersão do  $\text{BaTiO}_3$ , e morfologia com aspecto homogêneo.

**Palavras-chave:** borracha natural, nanocompósito, titanato de bário, termogravimetria.

**EVALUATION OF THERMAL PROPERTIES OF NATURAL RUBBER NANCOMPOSITIES AND BARIUM TITANATE**

**Abstract:** Nanocomposites are hybrid materials in which at least one of its components has nanometric dimensions. Barium titanate is a ferroelectric material with various applications within the electronic components market. Natural rubber is an important agricultural raw material and is considered strategic. Thus, the development of new materials from this renewable product is of great national interest. The objective of this work was the development and thermal characterization of natural rubber nanocomposites from clone RRIM 600 and barium titanate nanoparticles ( $\text{BaTiO}_3$ ). Nanocomposites were characterized by thermogravimetry (TG/DTG), differential exploratory calorimetry (DSC) and scanning electron microscopy (SEM). The addition of barium titanate increased the thermal stability of the materials. No influence of barium titanate concentration variation on the glass transition temperature of nanocomposites was observed, being the value obtained about  $-63\text{ }^\circ\text{C}$  for all materials. The nanocomposites showed a good dispersion of  $\text{BaTiO}_3$ , and homogeneous morphology.

**Keywords:** natural rubber, nanocomposite, barium titanate, thermogravimetry.

**1. Introdução**

A nanotecnologia é focada no desenvolvimento, caracterização, manipulação e aplicação de novos materiais na escala nanométrica. Estruturas nessa escala apresentam propriedades funcionais únicas não encontradas na escala macro, sendo que os nanocompósitos são materiais híbridos, nos

quais pelo menos um de seus componentes tem dimensões nanométricas. O titanato de bário é um material ferroelétrico com diversas aplicações, dentro do mercado de componentes eletrônicos. A borracha natural é uma importante matéria-prima agrícola, sendo considerada estratégica, sendo que o desenvolvimento de novos materiais a partir deste produto renovável é de grande interesse nacional (GALIANI, 2010; GONÇALVES, 2014).

Desta forma, objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento e caracterização térmica de nanocompósitos de borracha natural do clone RRIM 600 e nanopartículas de titanato de bário ( $\text{BaTiO}_3$ ). Os nanocompósitos foram caracterizados através de ensaios termogravimétricos (TG/DTG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1 - Coleta e processamento do látex de borracha natural**

A coleta do látex de borracha natural foi realizada no Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais em Votuporanga/SP, no período da manhã, ainda no seringal foi feita a estabilização do látex com solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  comercial (4,7 mL  $\text{NH}_4\text{OH}$  para cada 100 mL de látex) para o transporte até o laboratório. Para a realização dos ensaios de caracterização da borracha, o látex foi coagulado pela adição de solução de ácido acético 3 N. Cadastro de Acesso no SisGen N° A40CD36.

### **2.2 – Preparação dos nanocompósitos**

Para preparação dos nanocompósitos com 52, 100, 150 e 200 phr (partes por cem partes de borracha - m/m) de  $\text{BaTiO}_3$  (marca Aldrich), adicionou-se o  $\text{BaTiO}_3$  em um béquer contendo o látex, agitou-se com agitador de ponteira a amplitude de 50%, em banho de gelo, por 1 minuto. A mistura foi colocada em molde de teflon e seca em estufa à 50 °C “by casting”.

### **2.3 - Análise por termogravimetria**

Com objetivo avaliar a estabilidade térmica dos materiais obtidos foram realizados ensaios termogravimétricos (TG/DTG). A termogravimetria é uma técnica de análise na qual a variação da massa da amostra (perda ou ganho) é determinada em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura. Esta técnica possibilita avaliar as alterações que o aquecimento pode promover na massa das substâncias, permitindo estabelecer a faixa de temperatura na qual ocorre decomposição, e reações químicas tais como desidratação, oxidação, e combustão (CANEVAROLO, 2004). A análise TG/DTG foi feita no equipamento Q500 da TA Instruments, com razão de aquecimento de 10 °C/min, atmosfera inerte (nitrogênio), da temperatura ambiente até 700 °C.

### **2.4 - Calorimetria exploratória diferencial**

A propriedade física medida nesta análise é a diferença de fluxo de calor entre a amostra e o material de referência enquanto ambos são submetidos a uma programação controlada de temperatura (CANEVAROLO, 2004). A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) é aquela na qual se inicia o movimento de segmentos da cadeia polimérica foi determinada através desta técnica. Os ensaios foram realizados em um instrumento TA modelo Q100, com razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura de -90 °C a 100 °C.

### **2.5 - Microscopia eletrônica de varredura**

Com objetivo de analisar a morfologia e uniformidade foi realizado um estudo por microscopia eletrônica de varredura utilizando um microscópio eletrônico de varredura JEOL, modelo JSM 6510.

### 3. Resultados e Discussão

As curvas de TG (Figura 1) apresentam a influência do teor de titanato de bário nas estabilidade térmica dos nanocompósitos obtidos. Observamos que as amostras com 52 (phr), 100 (phr), 150 (phr) e com 200 (phr) de  $BaTiO_3$ , e a borracha natural sem adição de titanato de bário apresentaram comportamento similar com decomposição em uma única etapa. A adição do titanato de bário aumentou a estabilidade térmica dos materiais, sendo que o nanocompósito com 52 phr foi o que apresentou melhor desempenho, com boa estabilidade térmica até cerca de 340 °C. Os demais apresentaram estabilidade até cerca de 310 °C.

A curva DTG corresponde à derivada primeira da variação de massa em relação do tempo (dm/dt). O pico máximo na curva de DTG, Figura 2, está relacionado à temperatura na qual a massa está variando mais rapidamente (CANEVAROLO, 2004). Vemos que a amostra com 52 phr apresentou pico em aproximadamente, 400 °C, e as demais em aproximadamente, 370 °C.

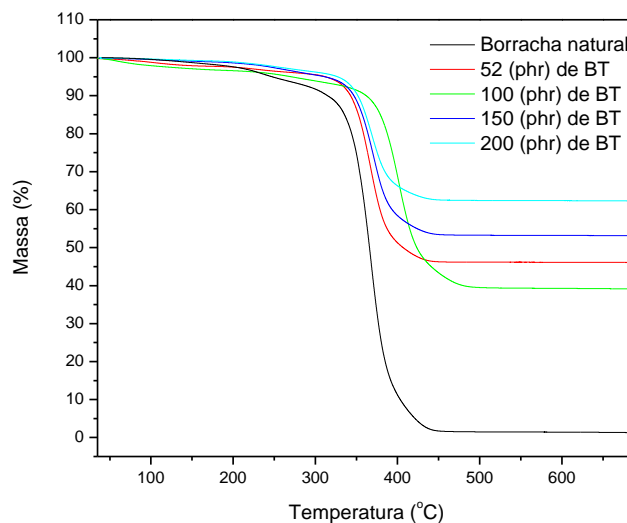


Figura 1. Curvas de TG da borracha natural e dos nanocompósitos com diferentes teores de titanato de bário,  $BaTiO_3$ , (phr). Atmosfera inerte.

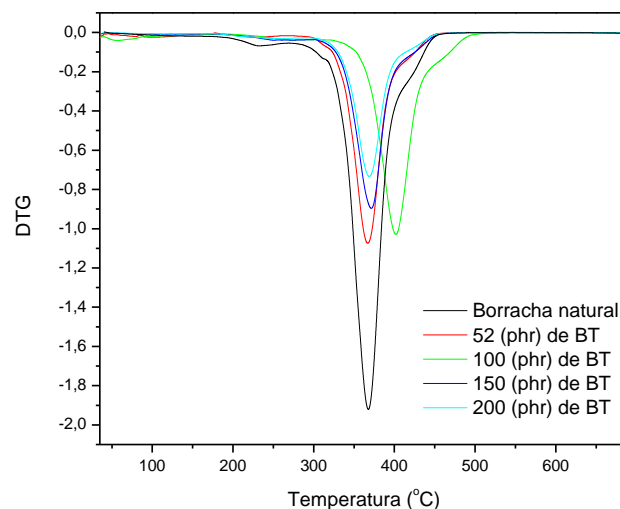


Figura 2. Curvas DTG da borracha natural e dos nanocompósitos com diferentes teores de titanato de bário,  $BaTiO_3$ , (phr). Atmosfera inerte.

A Figura 3 apresenta imagens dos nanocompósitos que foram obtidos na forma de filme “by casting” com um teor de 52, 100, 150 e 200 (phr) de titanato de bário. Observar-se que todos os materiais apresentaram uma boa dispersão do  $BaTiO_3$ , e com morfologia de apecto homogêneos. Foram observadas também estrias na superfície da amostra com 52 phr de  $BaTiO_3$ , Figura 2 (a).



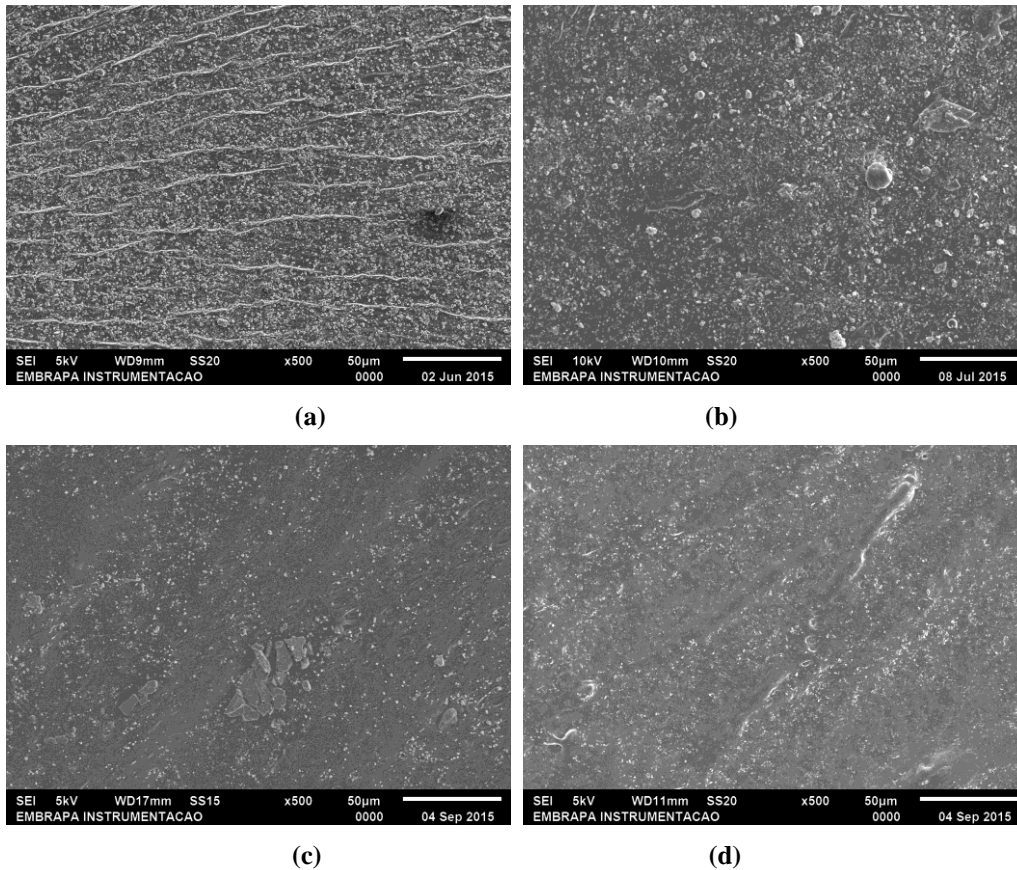


Figura 3. Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos com borracha natural, obtidos pelo mesmo método “by casting” com diferentes concentrações de BaTiO<sub>3</sub>: 52 phr (a), 100 phr (b), 150 phr (c) e 200 phr (d).

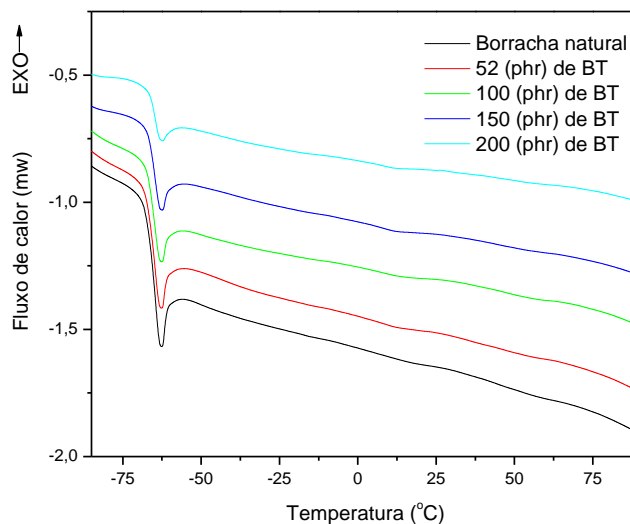


Figura 4. Curvas de DSC da borracha natural e dos nanocompósitos com diferentes teores de titanato de bário, BaTiO<sub>3</sub>, (phr).

A temperatura de transição vítrea está associada à fase amorfa dos polímeros e, portanto, é observada em polímeros amorfos e semicristalinos. Abaixo da T<sub>g</sub> o material encontra-se em um estado vítreo em que sua energia interna não é suficiente para que ocorra o deslizamento de uma cadeia em relação à outra e, portanto, as cadeias moleculares não apresentam mobilidade e o material torna-se rígido. Com o aumento da temperatura, a energia fornecida ao material torna-se suficiente para que as cadeias da fase amorfa adquiram mobilidade.

Na Figura 4 são apresentadas as curvas de DSC para os materiais estudados. A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) determinada pela técnica de DSC foi de aproximadamente  $-63\text{ }^\circ\text{C}$  para todos os nanocompósitos com as diferentes concentrações (CANEVAROLO, 2004; AKCELRUD, 2007).

#### 4. Conclusões

Foram obtidos com sucesso nanocompósitos de borracha natural e titanato de bário. A adição do titanato de bário aumentou a estabilidade térmica dos materiais. Não foi observado influência da variação da concentração de titanato de bário na temperatura de transição vítrea dos nanocompósitos, o valor obtido foi de cerca de  $-63\text{ }^\circ\text{C}$  para todos os materiais. Os nanocompósitos apresentaram uma boa dispersão do  $\text{BaTiO}_3$ , e aspecto homogêneo.

#### Agradecimentos

Agradecemos a Embrapa, CNPq, Capes, MCTI/SisNano e Rede AgroNano/Embrapa.

#### Referências

- AKCELRUD, L. "Fundamentos da ciência dos polímeros". Editora Manole Ltda. 1ª ed. São Paulo, 2007. p.50-105.
- CANEVAROLO Jr., S. V, "Técnicas de Caracterização de Polímeros", Artliber Editora Ltda, São Paulo, 2004
- GALIANI, P.D. Avaliação e caracterização da borracha natural de diferentes clones da seringueira cultivados nos estados do mato grosso e da Bahia. Tese de Doutorado em Ciências Físico-Química, Universidade Federal de São Carlos/SP, 2010. 175 p.
- GONÇALVES, P. DE S.; MARQUES, J. R. B. Melhoramento genético da seringueira: passado, presente e futuro. IN: SERINGUEIRA. Alvarenga, A.P. & Carmo, C.A.F. (Eds). Viçosa, EPAMIG, 2014. p. 489-594

## **CAPÍTULO 7**

### **Pós-colheita e Processamento de Alimentos**



**DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS EM TOMATES UTILIZANDO  
ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO MÉDIO**K. R. Borba<sup>1,\*</sup>, N. Bonfim<sup>2</sup>, F. C. A. Oldoni<sup>1</sup>, L. A. Colnago<sup>3</sup>, M. D. Ferreira<sup>3</sup><sup>1</sup> UNESP/FCFAR, Departamento de Alimentos e Nutrição, Araraquara, SP, Brasil, CEP 14800-903<sup>2</sup> UFSCar, Departamento de Química, São Carlos, SP, Brasil, CEP: 13565-905<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil, CEP: 13560-970

\* Autor correspondente, e-mail: borbakr@gmail.com

**Resumo:** O Brasil está entre os 10 maiores produtores mundiais de tomate. Após a colheita, tanto produtores quanto comerciantes e consumidores, se preocupam com a qualidade final do fruto. Para garantir que o produto final satisfaça as exigências e requisitos do mercado é necessário o controle de qualidade, onde o teor de sólidos solúveis (SS) é um importante parâmetro analisado. SS é diretamente relacionado a teor de açúcares e rendimento industrial no processamento de produtos atomatados. Em geral, os métodos convencionais de análise de qualidade de tomates ou outras frutas são destrutivos/invasivos, apresentam custos elevados com amostras e reagentes, são demorados e necessitam de mão de obra especializada. Para minimizar ou eliminar esses problemas tem se proposto o uso de técnicas não invasivas como a espectroscopia de de infravermelho. As principais vantagens observadas nestes estudos são: rapidez das medições, potencial para estimar simultaneamente vários atributos de qualidade, não apresentam necessidade de preparação elaborada da amostra. Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a utilização de infravermelho médio (MIR) associado a ferramentas quimiométricas na análise de SS em tomates. Para isso foi desenvolvido modelo PLS de predição de SS. A técnica de MIR resultou em um modelo com coeficiente de correlação de Pearson de 0.76, o que indica uma forte correlação entre os dados analíticos e os valores de referência. Os resultados mostraram que o MIR apresenta aplicabilidade para ser utilizado como método de avaliação de qualidade de tomates.

**Palavras-chave:** Espectroscopia, Infravermelho, PLS, Análise de qualidade; *Lycopersicon esculentum*.

**DETERMINATION OF SOLUBLE SOLIDS IN TOMATOES USING MID INFRARED SPECTROSCOPY**

**Abstract:** Brazil is among the top 10 world producers of tomatoes. After harvest, both producers, traders and consumers are concerned about the final quality of the fruit. To ensure that the final product meets the requirements of the market, quality control is required, where soluble solids content (SSC) is an important parameter analyzed. SSC is directly related to sugar content and industrial yield in the processing of tomato products. In general, conventional methods of quality analysis of tomatoes or other fruits are destructive / invasive, costly to sample and react with, time consuming and require skilled labor. To minimize or eliminate these problems, the use of noninvasive techniques such as infrared spectroscopy has been proposed. The main advantages observed in these studies are speed of measurements, potential to simultaneously estimate various quality attributes, do not require elaborate sample preparation. Thus, this work aimed to evaluate the use of medium infrared (MIR) associated with chemometric tools in the analysis of SSC in tomatoes. For this it was developed PLS model of SSC prediction. The MIR technique resulted in a model with a Pearson correlation coefficient of 0.76, which indicates a strong correlation between analytical data and reference values. The results showed that MIR has applicability to be used as a method of quality evaluation of tomatoes.

**Keywords:** Spectroscopy, Infrared, PLS, Quality Analysis, *Lycopersicon esculentum*.

## 1. Introdução

O Brasil é o nono maior país produtor de tomate, representando quase 3,5% da produção mundial, com 4,3 milhões de toneladas em 2014 (FAO, 2017). O estado de São Paulo é o segundo maior estado produtor, com 22,29% da produção ficando atrás de Goiás que representa 26,27 % da produção brasileira (FAO, 2017).

O tomate é um fruto originário da parte ocidental das Américas Central e do Sul, é uma planta que pertence à família das solanáceas (BOUGUINI et al., 2003). É um fruto climatérico, após a colheita continua passando por transformações fisiológicas de maturação. No fim da maturação ocorre um aumento na respiração e depois um decréscimo (CHITARRA e CHITARRA, 2005; KADER, 2002). Fruto macio, caracterizado por uma polpa suave, pele fina e muitas sementes (AJAVI e OLASEHINDE, 2009). Cerca de 95% da composição do fruto de tomate é água, nos 5% restantes encontram-se os compostos inorgânicos e sólidos solúveis (KADER, 2002; MACLEOD et al., 1976).

Para que o produto final, tanto *in natura* quanto após processamento, satisfaça as exigências e requisitos do mercado é necessário ser realizado um controle de qualidade do vegetal. Teor de sólidos solúveis (SST) é um dos principais importantes atributos de qualidade em tomates. Determinado, convencionalmente por meio refratometria e apresentado, geralmente, por °BRIX, o SST é utilizado, comumente, como medida do teor de açúcares nos frutos, podendo determinar seu grau de amadurecimento. Além disso, o SST está, diretamente, relacionado ao rendimento industrial, onde quanto maior o valor de °BRIX maior será o rendimento e menor o gasto de energia no processo de concentração da polpa (GIORDANO, 2000). Isso porque, quanto maior a quantidade de SST do fruto menor será a quantidade de água, gerando um aumento do rendimento da polpa concentrada (PEDRO e FERREIRA, 2007). Segundo estudos da Embrapa Hortaliças (2003), para cada aumento de 1° BRIX na matéria-prima existe um incremento de 20% no rendimento industrial. As indústrias brasileiras recebem tomates com SST médio de 4,5° BRIX (TAVARES e RODRIGUEZ-AMAYA, 1993).

Técnicas não destrutivas, como a espectroscopia do infravermelho médio (MIR), têm sido propostas para avaliar características representativas de qualidade em frutas e hortaliças, pois permitem rápida execução das medições, com potencial para estimar vários atributos de qualidade simultaneamente além da possibilidade de repetir as medições nas mesmas amostras (NICOLAI et al., 2014; SUN et al., 2009; HUANG et al., 2009; HUANG et al., 2008).

A espectroscopia é o estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria, essa radiação pode ser dividida em regiões de energia (DUFOR, 2009). A radiação de infravermelho corresponde à parte do espectro eletromagnético situada entre a região do visível e das micro-ondas, subdividido em infravermelho próximo ( $4000 - 12500 \text{ cm}^{-1}$ ), infravermelho médio ( $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ) e distante ( $100 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ) (DUFOR, 2009). O comprimento de onda de uma absorção depende das massas relativas dos átomos, das constantes de força das ligações e da geometria dos átomos (SUBRAMANIAN e RODRIGUEZ-SAONA, 2009).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver modelos quimiométrico de predição do teor de sólidos solúveis em tomates utilizando espectroscopia no infravermelho médio.

## 2. Materiais e Métodos

O projeto foi desenvolvido nos laboratórios da Embrapa Instrumentação em São Carlos. O modelo vegetal utilizado foi o tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv 'Italiano', os quais foram colhidos na cidade de São Carlos e transportados cuidadosamente até o laboratório, onde foram submetidos à seleção, lavagem e sanitização. A determinação de sólidos solúveis, pH e análises espectroscópicas foram realizadas sob as mesmas condições de temperatura e umidade relativa ( $21^\circ \text{C} \pm 1$  e 60% UR).

### 2.1. Sólidos solúveis (SS)

O teor de sólidos solúveis foi quantificado inserindo-se alíquota de 2-3 mL da polpa de

tomate em refratômetro de bancada Atago RX-5000cx. Os resultados foram expressos em °Brix (AOAC, 1997 - método 932.12).

### 2.2. Infravermelho média (MIR)

Os espectros de absorbância da região do infravermelho médio (MIR) foram coletados pelo espectrômetro Agilent Cary 630 FTIR. Foram coletados na região entre 650-4000  $\text{cm}^{-1}$  com uma resolução de 16  $\text{cm}^{-1}$  e 64 scans cada para melhorar a relação sinal-ruído. As análises foram realizadas pela análise na região equatorial de cada fruta intacta em triplicata.

### 2.3. Processamento dos Dados

A análise dos espectros de MIR, processamento e desenvolvimento dos modelos de predição foram realizadas pelos softwares Origin 9 OriginLab, Northampton, MA, USA) e Pirouette v.4.5 (Infometrix, Inc. Bothell – WA). Nessa etapa os espectros foram correlacionados com os resultados obtidos pelo método convencional (refratometria) para a construção dos modelos PLS de predição. Para correlacionar os dados de referência com os analíticos (espectros) foi utilizada a ferramenta quimiométrica PLS (Partial Least Squares).

Para a aplicação da regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) foram construídas matrizes onde os sinais analíticos (espectros) foram utilizados para a construção da matriz **X**, contendo as variáveis independentes. A matriz **Y** foi construída com os dados obtidos pelas análises químicas de referência, que são as variáveis dependentes. A aplicação do PLS nas matrizes **X** e **Y** foi realizada para obtenção da correlação entre os espectros e os dados de qualidade dos frutos.

A aplicação do método de PLS resulta em valores que possibilitam a avaliação da precisão e aplicabilidade dos modelos construídos. Esses resultados são: coeficientes de correlação de Pearson (*r*) da calibração (*r<sub>cal</sub>*), validação (*r<sub>val</sub>*), assim como, os erros quadráticos médios da calibração (RMSEC) e validação (RMSEV).

## 3. Resultados e Discussão

Para avaliar a precisão e aplicabilidade de um modelo de predição é necessário avaliar alguns índices como: erros médios da calibração, validação interna e externa; coeficientes de correlação de Pearson da calibração, validação interna e externa, número de fatores utilizados, dentre outros. Onde modelos com maior aplicabilidade são aqueles com menores erros e forte correlação. Em relação ao coeficiente de correlação de Pearson, tem-se que valores entre 0,50 e 0,70 são considerados moderados e modelos com valores de coeficiente de correlação acima de 0,70 são considerados modelos com forte correlação entre os sinais analíticos (espectros) e valores de referência (KOWALSKI e SEASHOLTZ, 1991).

Na tabela 1 estão os valores que possibilitam a avaliação da performance dos modelos PLS desenvolvidos. O modelo PLS desenvolvido para SS apresentou forte correlação, 0,76,

Tabela 1. Resultados obtidos com os modelos PLS para predição de SS e pH dos tomates na calibração e validação interna.

Parâmetro	Processamento	Calibração e validação interna				
		Fator	RMSEC	<i>r<sub>cal</sub></i>	RMSEV	<i>r<sub>val</sub></i>
SS (° BRIX)	Centralização na média, Normalização e suavização	10	0,11	0,84	0,13	0,76

# SS: sólidos solúveis; RMSEC: erros quadráticos médios da calibração ; RMSEV: erros quadráticos médios da validação ; *r<sub>cal</sub>*: coeficiente de correlação de Pearson da calibração; *r<sub>val</sub>*: coeficiente de correlação de Pearson da validação.

Os gráficos da relação entre os valores de SS medidos pelas técnicas analíticas de referência e os valores preditos pelo modelo espectroscópicos, na etapa de validação interna, está representado na figura 1.

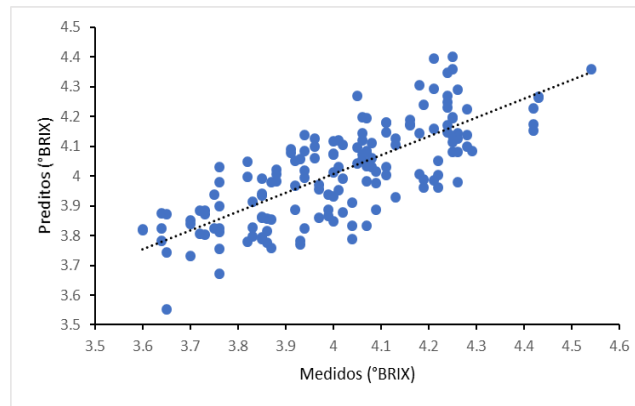


Figura 1. Gráfico dos valores medidos pelas análises de referência e preditos pelos sinais analíticos pelo modelo PLS-MIR para SS.

Na figura 2 é possível observar as diferenças de intensidade das bandas de absorção em espectros de tomate com alto teor de SS (4.77 °BRIX) e aqueles com SS mais baixo (3.52 °BRIX).

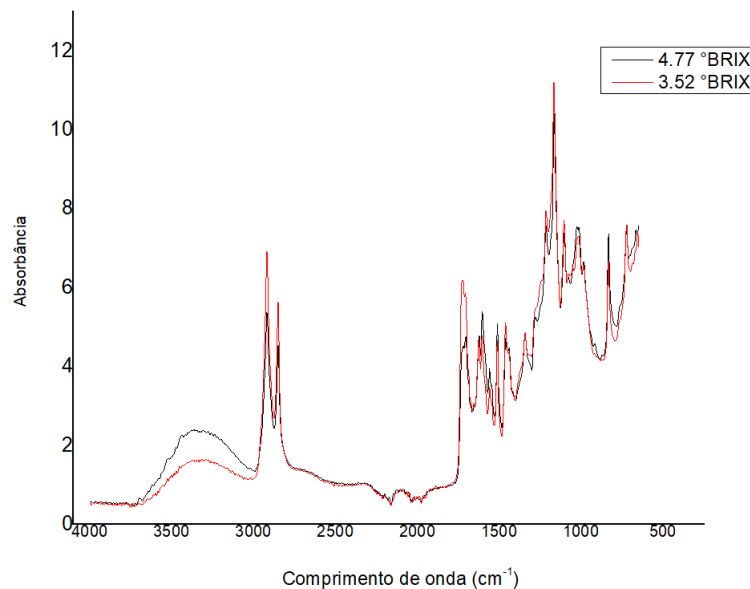


Figura 2. Espectros de reflectância no infravermelho médio de duas amostras de tomate distintas.

#### 4. Conclusões

O modelo PLS desenvolvido apresentou valores adequados de coeficiente de correlação e baixo erro na predição de sólidos solúveis.

#### Agradecimentos

À CAPES pela bolsa de doutorado fomentada.

#### Referências

- EMBRAPA HORTALIÇAS (2013) ‘ Sistemas de Produção’ Versão eletrônica. Acessado: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br> [Maio, 2018]
- FAO, 2017. Faostat Agriculture Data. Food and Agriculture Organization. Disponível em: <http://faostat.fao.org> [Acessado maio 10, 2017].
- BORGUINI, R. G., OETTERER, M., SILVA, M. V. Qualidade nutricional de hortaliças orgânicas. Boletim da SBCTA, v. 37, n. 1, p. 28-35, 2003.
- CHITARRA, M.I.F. e CHITARRA, A.B., 2005. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio 2a EDIÇÃO. Lavras: FAEPE, ed., 2005.



- AJAVI, A.A and OLASEHINDE, I. G. 2009. Studies on the pH and protein content of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) fruits deteriorated by *Aspergillus niger*. *Sci. Res. and Essay*. v.4 n.3. pp. 185-187.
- BORBA, K. R., SAPELLI, K. S., SPRICIGO, P., FERREIRA, M. D. (2017) 'Near Infrared Spectroscopy Sugar Quantification in Intact Orange' *Citrus Research & Technology* v. 38, pp. 1-7.
- DUFOUR, É., 2009. Principles of Infrared Spectroscopy. *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*.
- HUANG, H. et al., 2008. Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. *Journal of Food Engineering*, 87(3), pp.303–313.
- HUANG, Y., RASCO, B.A. & CAVINATO, A.G., 2009. Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control. *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*, pp.355–375.
- KADER, A.A., 2002. Postharvest Technology of Horticultural Crops trird., University of California. Agriculture ans Natural Resources.
- MACLEOD, R.F., KADER, A.A., MORRIS, L.L., 1976. Damage to fresn tomatoes can be reduced. (December), pp.10–12.
- GIORDANO, L.B. de & C.S.C, R., 2000. Origem. Botânica e Composição Química do fruto. *Tomate para processamento industrial*, pp.12–17.
- PEDRO, A.M.K., FERREIRA, M.M.C. 2007. Simultaneously calibrating solids , sugars and acidity of tomato products using PLS2 and NIR spectroscopy. , 595, pp.221–227.
- SUN, D.W. et al. (2009) 'Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control', *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*, pp. 355–375.
- TAVARES, C.A. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B., 1993. Carotenoid Composition of Brazilian Tomatoes and Tomato Products. *LWT - Food Science and Technology*, 27.
- NICOLAI, B.M. et al., 2014. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality. *Annual review of food science and technology*, 5, pp.285–312.
- SUBRAMANIAN, A., RODRIGUEZ-SAONA, L.E. 2009. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy.

**FILMES POLIMÉRICOS COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA FORNECEM  
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA PARA EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS**Sabrina da Costa Brito<sup>1,2,\*</sup>, Joana D. Bresolin<sup>2</sup>, Kátia Sivieri<sup>1</sup>, Marcos David Ferreira<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Rodovia Araraquara Jaú, Km 01, Araraquara, SP, 14800-903, Brasil<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, Caixa Postal 741, São Carlos, SP, 13560-970, Brasil

\* Autor correspondente, e-mail: scbrito@yahoo.com.br

**Resumo:** As inovações tecnológicas nas embalagens visam otimizar a prevenção das contaminações microbiológicas, garantindo assim uma melhor conservação e segurança alimentar, neste contexto este trabalho avaliou o efeito antimicrobiano de filmes de polietileno de baixa densidade (PEBD) incorporados com nanopartículas de prata (NPsAg) em diferentes concentrações, sendo elas 1,50, 15,00 e 75,00 µg/mL. A análise da eficácia antimicrobiana dos filmes foi realizada utilizando o Teste de Atividade Antimicrobiana de Contato e Teste de Agitação em Frasco nas bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. De acordo com os resultados, a adição de NPsAg ao PEBD promove propriedades antimicrobianas contra os microrganismos estudados, sendo a inibição microbiana maior em bactérias Gram-negativas do que nas bactérias Gram-positivas, e observou-se que os filmes nanoestruturados inibiram o crescimento e a reprodução de células bacterianas durante os estágios iniciais. Esses resultados sugerem que os filmes de PEBD aditivado com NPsAg podem contribuir significativamente para a qualidade e segurança dos alimentos.

**Palavras-chave:** Polietileno, Nanopartículas de Prata, Antimicrobiano, Embalagem Alimentícia.

**POLYMERIC FILMS OF SILVER NANOPARTICLES PROVIDE ANTIMICROBIAL  
ACTIVITY IN FOOD PACKAGING**

**Abstract:** Technological innovations in packaging aim to optimize the prevention of microbiological contamination, thus being able to guarantee a better conservation and food safety, in this case this work has evaluated the antimicrobial effect of low-density polyethylene (LDPE) films incorporated with silver nanoparticles (AgNPs) at different concentrations, namely 1.50, 15.00 and 75.00 µg/mL. The antimicrobial efficacy analysis of the films was performed using the Contact Antimicrobial Activity Test and Flask Shaking Test on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. According to the results, the addition of AgNPs to LDPE promotes antimicrobial properties against the studied microorganisms, and the microbial inhibition was higher in Gram-negative than Gram-positive bacteria, and it was observed that nanostructured films inhibited growth and reproduction of bacterial cells during the early stages. These results suggest that NPsAg additive LDPE films can contribute significantly to food quality and safety.

**Keywords:** Polyethylene, Silver Nanoparticles, Antimicrobial, Food Packaging.

**1. Introdução**

As embalagens têm como principal propósito proteger os alimentos contra qualquer ação de deterioração, sendo está podendo ser proporcionada por contaminações químicas, físicas ou biológicas, desde seu acondicionamento até o consumo final, visando a prolongação da *shelf life* do produto alimentício (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008; PIRINGER; BANER, 2000).

Dentre as ações que contribuem para uma melhora da qualidade dos alimentos ofertados ao consumidor estão investimentos em infraestrutura de transportes, melhorias nos

sistemas de refrigeração, boas práticas de fabricação durante o processamento e inovações tecnológicas em embalagens (BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002; PEIXOTO; PINTO, 2016).

Relacionado as inovações tecnológicas, a aplicação da nanotecnologia em embalagens destinadas à indústria de alimentos tem contribuído para buscar soluções anteriormente consideradas um obstáculo, como o curto tempo de prateleira (CHAUDHRY et al., 2008), estas embalagens visam aprimorar a prevenção de contaminações, em especial aquelas proporcionadas por microrganismos, e assim melhorando a conservação e segurança dos alimentos (BRODY et al., 2008; MARSH; BUGUSU, 2007; MIHINDUKULASURIYA; LIM, 2014).

Devido a isso, vem sendo apresentada uma nova geração de embalagens ativas para alimentos, como as embalagens nanoestruturadas à base de nanopartículas metálicas (Greiner, 2009), estas apresentam um ótimo desempenho em suas atividades antimicrobianas e isso se dá devido a sua elevada proporção de área superficial e volume (DAMM; NEUMANN; MÜNSTEDT, 2005). Dentre as nanopartículas metálicas estão as nanopartículas de prata (NPsAg), que além de apresentarem intensa ação antimicrobiana (KIM et al., 2007; RUPARELIA et al., 2008; SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004), é uma das substâncias mais utilizadas em conjunto com materiais poliméricos (BECARO et al., 2015; DEHNAVI et al., 2012; JOKAR et al., 2012)

Desta forma, este projeto teve como objetivo avaliar o potencial de utilização de embalagens poliméricas aditivadas com NPsAg em relação a propriedades antimicrobianas por meio de análises *in vitro*, visando melhorar a qualidade físico-química e microbiológica dos alimentos.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Materiais

Foi utilizado masterbatch de base de PEBD, contendo em sua formulação NPsAg dispersas no carregador de sílica (SiO<sub>2</sub>) nas concentrações de 1.50, 15.00 e 75.00 µg/mL e como controle foi utilizado o filme de PEBD sem a adição de NPsAg. Os masterbatches foram obtidos de uma empresa de nanotecnologia e os filmes foram produzidos em uma fábrica de embalagens plásticas. Ambas as empresas estão sediadas em São Carlos / SP.

### 2.2. Atividade Antimicrobiana por Contato

Para o teste de atividade antimicrobiana por contato, as colônias das bactérias foram inoculadas caldo de soja triplicaseína (TSB) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período, as bactérias foram centrifugadas (Hettich zentrifugen Rotina-390) e o sobrenadante foi descartado para em seguida estas células serem ressuspensas em solução salina (0.9%). O inóculo de microrganismo foi ajustado na concentração de UFC/mL de 10<sup>5</sup> (PAGNO et al., 2015).

Os filmes com NPsAg e controle foram cortados em quadrados pequenos e desinfetados por imersão em álcool etílico 70% por 15 minutos, para posteriormente serem acomodados na parede interna dos tubos Eppendorf (PAGNO et al., 2015).

Nos tubos foram adicionados 500 µL de suspensão microbiana e incubados em agitação suave na incubadora rotativa por 24 horas a temperatura ambiente (±25°C) (PAGNO et al., 2015).

Posteriormente, foi retirada uma alíquota da suspensão microbiana para se obter diluições seriadas, e de cada diluição 10 µL da solução microbiana foi semeada no meio ágar triptona de soja (TSA); para em seguida serem incubadas a 37°C em 24 h (PAGNO et al., 2015).

As células viáveis em cada uma das placas, inoculadas com microrganismos, foram contadas para quantificação da formação de colônias.(PAGNO et al., 2015).

### 2.3. Teste de Agitação em Frasco

No teste de agitação em frasco, os filmes com NPsAg e controle foram cortados em quadrados pequenos, desinfetados por imersão em álcool etílico 70% por 15 minutos, e posteriormente imersos em 100 mL de TSB (JOKAR et al., 2012).

Em um erlenmeyer contendo TSB com os corpos de prova e 0.4 g de tween 80 foi inoculado 1 mL de cada bactéria, ajustados na concentração de  $10^5$  UFC/mL. Na sequência foram incubados sob agitação a  $37^\circ\text{C}$ , sendo que a cada duas horas uma alíquota de amostra era retirada para acompanhamento do crescimento microbiano por meio da leitura de absorbância a 600 nm pelo espectrômetro de Ultravioleta – Visível (UV-Vis) (JOKAR et al., 2012).

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Atividade Microbiana por Contato

Os resultados obtidos pela atividade microbiana por contato mostraram que os filmes nanoestruturados exibiram ações antimicrobianas contra os microrganismos estudados (Tabela 1).

Pode ser observado que *S.aureus* e *E.coli* apresentaram uma redução de UFC/mL a partir da concentração NPsAg 1.50  $\mu\text{g/mL}$ , porém ao contrário da bactéria Gram negativa a *S. aureus* começou a apresentar diferenças significativas ( $p \leq 0.05$ ) com o controle negativo a partir da concentração 7.50  $\mu\text{g/mL}$  sugerindo que a inibição das bactérias Gram negativas foi significativamente maior que das bactérias Gram positivas, além disso, foi verificado que quanto maior a concentração de NPsAg nos corpos de prova há um aumento na inibição, sugerindo uma maior eficácia de agente antimicrobiano dos filmes PEBD com o acréscimo de NPsAg; similares aos resultados observados por Ruparelia et al.(2008) em um estudo de efeito bactericida de NPsAg em *E.coli* e *S.aureus*.

Tabela 1. Distribuição dos valores relativos à média e  $\pm$ desvio padrão de contagens (UFC/ml) de *S. aureus*, e *E.coli* em relação ao controle negativo e aos corpos de prova nanoestruturados ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Concentrações ( $\mu\text{g/mL}$ )	<i>S.aureus</i> (UFC/ml)	<i>E.coli</i> (UFC/ml)
Controle Negativo	162.2 $\pm$ 68.3 <sup>a</sup>	157.6 $\pm$ 21.0 <sup>a</sup>
1.50	108.3 $\pm$ 43.0 <sup>ab</sup>	117.9 $\pm$ 4.2 <sup>b</sup>
15.00	65.8 $\pm$ 3.6 <sup>b</sup>	38.7 $\pm$ 8.2 <sup>d</sup>
75.00	48.1 $\pm$ 2.5 <sup>c</sup>	1.9 $\pm$ 1.1 <sup>f</sup>

\*Médias seguidas da mesma letra, entre as linhas, não são significativamente diferentes pelo teste de Games-Howell ( $p > 0.05$ ).

\*\*Análises realizadas em triplicada.

Os resultados encontrados sugerem que o efeito antimicrobiano das NPsAg pode estar associado com as características de certas espécies de bactérias. As bactérias Gram positivas e Gram negativas apresentam diferenças na estrutura da membrana, sendo a mais distinta a espessura da camada de peptidoglicano, que tem como função essencial proteger a bactéria contra agentes antibacterianos. As Gram positivas por apresentarem uma espessura de peptidoglicano superior as Gram negativas, podem se proteger com maior eficácia da formação de rupturas na sua membrana celular, corroborando com os valores de inibição apresentados nesta pesquisa (KIM et al., 2007; KIM; LEE; RYU, 2011; RUPARELIA et al., 2008).

#### 3.2. Teste de Agitação em Frasco

Os resultados obtidos, por meio do teste de agitação em frasco, mostram que os filmes nanoestruturados influenciaram na cinética de crescimento da *S.aureus* e *E.coli*, como pode ser observado nas figura 1.

Desta forma, ocorre um claro indicativo que os filmes nanoestruturados promoveram inibição no crescimento e na reprodução de células bacterianas logo nos primeiros estágios. Corroborando ao que foi observado na pesquisa de Sadeghnejad et al. (2014), onde ao testar a ação antimicrobiana de filmes de polietileno com NPsAg contra *S.aureus* e *E.coli* no teste de agitação em frasco, verificou que a NPsAg influenciou nas fases lag e log de ambas bactérias. Também pode ser verificado que quanto maior a concentração (ppm) de NPsAg nos filmes de PEBD maior é a sua influência na cinética de crescimento das bactérias estudadas.

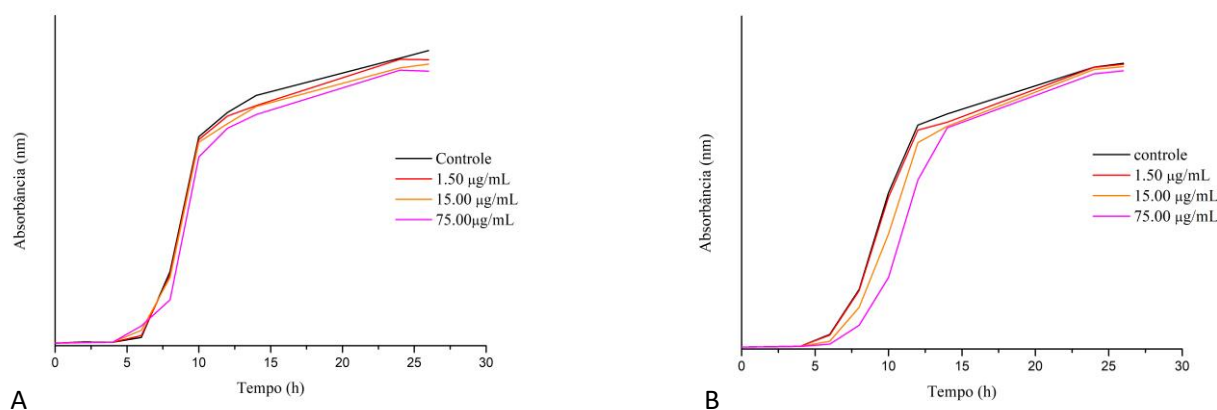


Figura 1. Curva de crescimento relativo aos corpos de prova controle e nanoestruturado em *S. aureus* (A) e *E. coli* (B)

#### 4. Conclusões

Os filmes PEBD + NPsAg, foram eficazes na inibição dos microrganismos estudados, sendo que a NPsAg apresentou uma ação antimicrobiana maior em bactérias Gram negativas. Os resultados demonstraram o potencial na utilização do polietileno de baixa densidade aditivados com nanopartículas de prata na ação antimicrobiana em embalagens de alimentos, podendo auxiliar na manutenção da qualidade e redução de riscos de contaminação de alimentos.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) - Código Financeiro 1633026, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, projeto 13.16.04.041.00.00) para suporte técnico e financeiro.

#### Referências

- BECARO, A. A. et al. Polyethylene Films Containing Silver Nanoparticles for Applications in Food Packaging: Characterization of Physico-Chemical and Anti-Microbial Properties. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 3, p. 2148–2156, 2015.
- BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução - RDC N 275, de 21 de outubro de 2002. **Anvisa**, v. 2002, p. 1–23, 2002.
- BRODY, A. L. et al. Innovative food packaging solutions. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 8, p. 107–116, 2008.
- CHAUDHRY, Q. et al. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 25, n. 3, p. 241–258, 2008.
- DAMM, C.; NEUMANN, M.; MÜNSTEDT, H. Properties of nanosilver coatings on polymethyl methacrylate. **Soft Materials**, v. 3, n. 2–3, p. 71–88, 2005.
- DEHNAVI, A. et al. Preparation and characterization of polyethylene/silver nanocomposite films with antibacterial activity. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 127, n. 2, p. 1180–1190, 2012.
- GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. Embalagens para alimentos. In: **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008. p. 512.
- GREINER, R. Current and projected applications of nanotechnology in the food sector. **Nutrire: journal of the Brazilian Society for Food and Nutrition**, v. 34, n. 1, p. 243–260, 2009.
- JOKAR, M. et al. Melt Production and Antimicrobial Efficiency of Low-Density Polyethylene (LDPE)-Silver Nanocomposite Film. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 2, p. 719–728, 2012.

- KIM, J. S. et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 3, n. 1, p. 95–101, 2007.
- KIM, S.; LEE, H.; RYU, D. Antibacterial activity of silver-nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Korean J Microbiol ...**, v. 39, n. 1, p. 77–85, 2011.
- MARSH, K.; BUGUSU, B. Food packaging - Roles, materials, and environmental issues: Scientific status summary. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 3, p. 39–55, 2007.
- MIHINDUKULASURIYA, S.; LIM, L. Nanotechnology development in food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 40, n. 2, p. 149–167, 2014.
- PAGNO, C. H. et al. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. **Food Chemistry**, v. 173, p. 755–762, 2015.
- PEIXOTO, M.; PINTO, H. **Desperdício de alimentos: Questões socioambientais, econômicas e regulatórias**. Disponível em:  
<<https://www12.senado.leg.br/publicacoes/estudoslegislativos/tipos-de-estudos/boletins-legislativos/bol41>>. Acesso em: 20 jul. 2016.
- PIRINGER, O. G.; BANER, A. L. **Plastic Packaging Materials for Food: Barrier Function, Mass Transport, Quality Assurance, and Legislation**. 1. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2000.
- RUPARELIA, J. P. et al. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. **Acta Biomaterialia**, v. 4, n. 3, p. 707–716, 2008.
- SADEGHNEJAD, A. et al. Antibacterial nano silver coating on the surface of polyethylene films using corona discharge. **Surface and Coatings Technology**, v. 245, p. 1–8, 2014.
- SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 275, n. 1, p. 177–182, 2004.

UTILIZAÇÃO DA RMN-DT NO CONTROLE DE QUALIDADE DE MANTEIGAS E  
MARGARINASRodrigo H. S. Garcia<sup>1,\*</sup>, Luiz. A. Colnago<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, Av. Trab. São Carlense, 400, CEP -13566-590, São Carlos, São Paulo

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de novembro, 1452, CEP – 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: rodrigogarcia@usp.br

**Resumo:** Manteiga e margarina fazem parte de nossa vida diária. Mesmo com a mudanças de matéria prima para produção de margarina, nos últimos anos, o produto comercial manteve as propriedades organolépticas praticamente inalterada e o consumidor nem chegou a perceber essa mudança no processo industrial. Isso se deve principalmente ao controle do teor de gordura sólida (SFC- do inglês Solid Fat Content). Diversas técnicas são utilizadas, para determinação do SFC, no entanto, a Ressonância Magnética no Domínio do Tempo (RMN-DT) se destaca devido a seu baixo custo, análise rápida e não destrutiva. Para realizar a medição por RMN-DT é necessário usar uma sonda especial com um tempo morto menor do que 10 microssegundos. Neste trabalho, foi determinado o perfil de SFC para duas amostras de manteigas e duas amostras de margarinas de diferentes origens. Os perfis de SFC das manteigas e margarinas foram semelhantes entre as marcas analisadas, foi proposto também um método alternativo para determinação do SFC.

**Palavras-chave:** Margarina, manteiga, Solid Fat Content, RMN-DT.

*USE OF TD-NMR FOR QUALITY CONTROL OF MILK DERIVATIVES*

**Abstract:** Butter and margarine are part of our daily life. Even with the change in the margarine feedstock, in recent years, the commercial product has kept the organoleptic properties virtually unchanged and the consumer has not even noticed this change. This is mainly due to the control of solid fat content (SFC). Several techniques are used to determine SFC, however, the Time Domain Magnetic Resonance (TD-NMR) stands out due to its low cost, fast and non-destructive analysis. TD-NMR measurement requires a special probe with a dead time of less than 10 microseconds. In this work, the SFC profile was determined for two butter samples and two margarine samples from different sources. The butters and margarines SFC profiles were similar between the brands. An alternative method for SFC determination was also proposed.

**Keywords:** Margarine, butter, Solid Fat Content, TD-NMR.

**1. Introdução**

A manteiga é um dos mais importantes derivados do leite, sua fabricação constitui um setor fundamental da indústria alimentícia. Quase um terço da produção mundial de leite destina-se à fabricação de manteiga, os principais produtores são os Estados Unidos, Rússia, Alemanha, França e Nova Zelândia. A Europa já passou por vários tempos de escassez da manteiga, em uma dessas escassezes o químico Hippolyte de Mège Mouriés (1817-1880) desenvolveu uma nova gordura que seria a base da margarina, descoberta esta premiada pelo imperador Napoleão III em 1869 (AINI et al. 2007).

No Brasil a margarina vem substituindo a manteiga, devido, principalmente, a seu menor custo. Em 2016, a margarina foi responsável por 85% de todas as vendas de volume de gordura amarela no Brasil. Devido ao grande aumento na produção e consumo das manteigas e margarinas o controle de qualidade (QC) se torna cada vez mais importante no desenvolvimento, processo e produção (ROUX. 2019, DUYNHOVEN et al. 2010).

O QC é um fator muito importante e é necessário em diferentes fases do processo de desenvolvimento, da matéria prima até o produto final. O impacto da composição da gordura sobre as características físicas e organolépticas dos alimentos é bem conhecido (ALMEIDA. 2008). O comportamento físico e de cristalização da gordura influenciam no sabor, ponto de fusão e na cor do produto final. Portanto, é necessário identificar a forma dessas gorduras desde o processo de produção e até o produto final.

Vários métodos são empregados para no controle de processos, desde a análise sensorial até as diversas técnicas analíticas (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. 2006) (espectroscopia de ultravioleta, absorção atômica, infravermelho, radiação e ressonância magnética nuclear). Tanto na manteiga quanto nas margarinas a determinação do índice de gordura sólida (SFC- do inglês *solid fat content*) é um dos principais parâmetros de qualidade. A indústria de alimento utiliza o SFC (COBO. 2017) e a curva de fusão como um dos parâmetros de qualidade mais importante para gorduras. Os valores de SFC são utilizados para o controle do processo de hidrogenação, interesterificação e blends de matérias primas, além disso, o controle do SFC é necessário para o desenvolvimento de novos produtos ou substituição de matéria prima.

O principal método para determinação do SFC é a técnica de ressonância magnética nuclear no domínio do tempo (RMN-DT) por é uma medida direta, não destrutiva e de baixo custo. Como o sinal de RMN da gordura sólida decai muito rapidamente é necessário o uso de sonda com tempo morto abaixo de 10  $\mu$ s. No entanto, nesse tempo parte do sinal da gordura sólida já decai e é necessário utilizar um fator de correção denominado de fator-*f*. Este fator é determinado com uso de três amostras padrões, de acordo com protocolo da American Oil Chemists' Society (AOCS) ou da International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC-2.150). Ambos os métodos apresentam similaridades e apenas se diferenciam pela faixa de temperatura analisada.

O método direto (AOCS Cd16b-93) analisa o sinal RMN do componente sólido e líquido já o método indireto (AOCS Cd16-81) se baseia na detecção do componente líquido e compara com o das amostras padrão. O método Cd16b-93 é mais utilizado na indústria por ser um método mais rápido. Ele método utiliza o sinal de RMN denominado de FID (*free induction decay*) de acordo com a Figura 1. Nesta figura a linha rachuriada, em vermelho, representa o tempo em que não se pode usar o sinal de RMN, pois ela está distorcida devido as imperfeições instrumentais. Por isso é chamado de tempo morto (*tm*), que deve ser menor do que 10  $\mu$ s no método Cd16b-93. Para a determinação do SFC é necessário medir a intensidade do sinal abaixo desse tempo (8,5  $\mu$ s neste trabalho) para determinação do componente em estado sólido mais o componente no estado líquido ( $S_{S+L}$ ) e em 70 microssegundos para os componentes líquidos ( $S_L$ ). A partir desses dois sinais o teor de de gordura sólida é calculado a partir da razão entre os componentes sólidos ( $S_{S+L}-S_L$ ) e componentes líquidos ( $S_L$ ). O *f* é um fator de correção empírica (estabelecido durante a calibração) para contabilizar o tempo morto do espectrômetro.

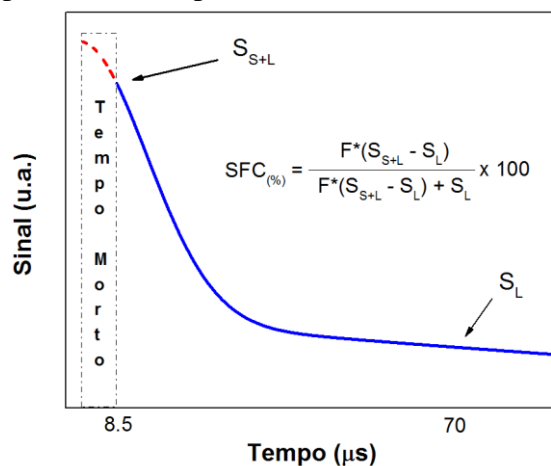


FIGURA 1. Diagrama detalhando como obter o SFC pelo método direto utilizando o sinal de RMN (COBO. 2017).



## 2. Materiais e Métodos

As manteigas e margarinas de diferentes marcas foram adquiridas no comércio local de São Carlos-SP e enumeradas como A1, A2 e B1, B2, respectivamente. Foram preparadas seguindo o procedimento estabelecido na AOC Cd 16b-93. Utilizou uma alíquota de 1mL das amostras líquidas para realizar o tratamento térmico, com banho termostático: Cienlanb modelo:CE-110/6 com temperatura de trabalho: 10 a 40°C, resolução de  $\pm 0,1$  °C e Tecnal modelo TE-2005 com temperatura de trabalho de 0°C, resolução de  $\pm 0,1$  °C.

Os sinais de RMN foram adquiridos no espectrômetro Minispec ND Mq-20 (Bruker, Alemanha) com uma frequência para  $^1\text{H}$  de 19,9 MHz ( $B_0 \sim 0,47$  T), probe de 10mm de diâmetro, tempo morto de 8.5  $\mu\text{s}$  e duração do pulso de  $\pi/2 = 3.6$   $\mu\text{s}$ . O método direto de medição do SFC tem 5 etapas. I) Derreter a gordura durante 5 minutos na temperatura de 80-100 °C; II) Acrescentar 1-3 mL da amostra no tubo de 10 mm; III) Colocar durante 5-15 minutos a amostra no banho na temperatura de 60°C;

IV) Colocar a amostra no banho com a temperatura de aproximadamente 0°C, durante o tempo de 60 minutos e V) Colocar de 30 à 35 minutos na temperatura de análise. Geralmente no método direto a temperatura de análise varia de 10°C até 60°C e a temperatura final vai depender do comportamento da gordura analisada.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Determinação dos valores de SFC para manteigas e margarinas

Na Figura 2 estão os valores de SFC obtidos em diferentes temperaturas para as amostras de manteiga A1 (barra preta) e A2 (barra vermelha). Nesta figura é possível observar que na temperatura de 10°C, como esperado, obteve-se maiores valores de SFC. Nesta temperatura a amostra A1 apresentou um SFC de  $28.75 \pm 1.94$  % e a amostra A2 o valor de SFC foi de  $34.1 \pm 1.92$  %, indicando que a amostra 2 tem maior. O SFC entre 4-10°C determina a facilidade de espalhabilidade do produto, sendo um teor de SFC < 32 % essencial para a boa estabilidade do produto (RUSSEU et al. 1996). Na temperatura de 10°C foi que as amostras apresentaram maior diferenças nos valores de SFC, nas demais temperaturas os valores ficaram próximos como era de se esperar visto que a composição química descrita pelo fabricante é mesma para as duas amostras analisadas.

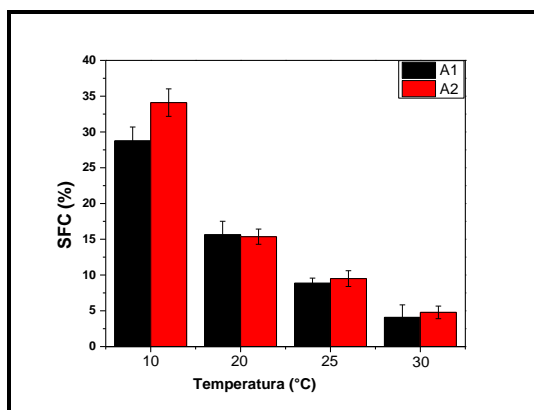


FIGURA 2. Valores de SFC obtidos em diferentes temperaturas para as amostras A1 (barra preta) e A2 (barra vermelha).

Na Figura 3 estão os valores de SFC obtidos em diferentes temperaturas para as amostras B1 (barra preta) e B2 (barra vermelha). Como esperado os valores de SFC obtidos para as margarinas é bem menor do que os valores de SFC obtidos para as manteigas para uma mesma temperatura de tratamento térmico. Na Figura 3 é possível observar que os valores de SFC se diferenciaram em todas as temperaturas analisadas, porém na temperatura de 20 °C foi que apresentou maior variação. O SFC determinado na temperatura de 20°C foi de  $5,13 \pm 0,85$  % e  $6,86 \pm 1,03$  % para as amostras B1 e B2, respectivamente.

O SFC determinado na temperatura de 20-22°C é extremamente importante para a qualidade da margarina e manteiga pois nesta temperatura ele determina a estabilidade do produto e sua resistência à exsudação do óleo em temperatura ambiente, sendo que um valor de até 10 % é essencial para prevenir a saída do óleo (ROUSSEAU et al. 1996). Os valores de SFC nas demais temperaturas ficaram bem próximos do esperado e dentro da barra de erro entre as amostras.

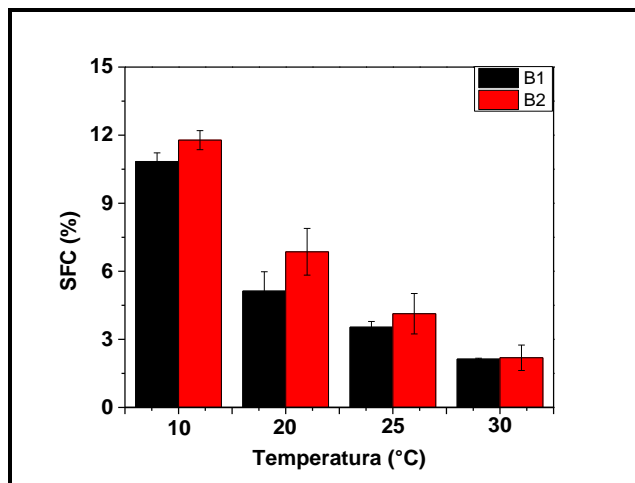


FIGURA 3. Valores de SFC obtidos em diferentes temperaturas para as amostras B1 (barra preta) e B2 (barra vermelha).

### 3.3 Método alternativo para determinar o SFC.

O método padrão descrito acima apresenta algumas dificuldades técnicas, como a necessidade de se usar padrões para determinar o fator  $f$ ; o espectrômetro necessita ter probe com  $t_m < 10 \mu s$  e a homogeneidade do campo magnético que leva ao decaimento do FID com uma constante de tempo  $> 1 ms$ . Essas especificações que elevam o preço de aquisição do espectrômetro e amostras padrões além de ter que se determinar o valor de  $f$  toda vez que houver variação nas especificações do instrumento. Assim, também estamos propondo um método alternativo para determinação de SFC sem a necessidade de o espectrômetro apresentar as especificações e de não necessitar de determinar o fator  $f$ .

O método alternativo do uso da sequência Rhim and Kessemeier Radio Frequency Optimized Solid-Echo (RK-ROSE) (GARCIA et al. 2019), que apresenta a capacidade de refocalização quase perfeita do sinal de RMN após o  $t_m$ . Como isso o espectrômetro não necessita ser calibrado com padrões não precisa ter  $t_m < 10 \mu s$  e homogeneidade maior que leva a um FID com  $1ms$ . Para demonstrar a eficiência do método alternativo, utilizamos uma amostra de manteiga de cacau.

Na Tabela 1 estão os valores obtidos com o método padrão e com o método alternativo. Nesta tabela é possível observar que os valores de SFC do novo método estão bem próximos do valor obtido com o método padrão, por exemplo, o SFC obtido com o método alternativo foi de  $86,06 \pm 1,83 \%$  e com o método padrão foi de  $87,03 \pm 0,15 \%$ . Porém com a vantagem que o método alternativo utilizou o sinal adquirido com  $t_m = 28 \mu s$ .

TABELA 1. Valores de SFC obtidos para amostra de manteiga de cacau com diferentes métodos, onde  $t_m$  é o tempo morto do espectrômetro.

	$t_m = 8.5 \mu s$	$t_m = 28 \mu s$
Método Padrão	$87,03 \pm 0,15$	-
Método Alternativo	$87,64 \pm 0,74$	$86,06 \pm 1,83$

#### 4. Conclusões

De acordo com os resultados obtidos, o SFC determinado em diferentes temperaturas para duas amostras de manteigas e duas amostras de margarinas se diferenciaram bastante nas temperaturas de 10°C e 20°C, respectivamente. Nas demais temperaturas os valores obtidos estão dentro do erro experimental. Os resultados preliminares método alternativo para determinação de SFC baseado na sequência RK-ROSE, apresentou valores bem próximos dos obtidos com o método padrão, com as vantagens de usar um espectrômetro mais simples e sem usar amostras de calibração.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem as agências de financiamento CAPES – Código de Financiamento 001, FAPESP - 2017/02197-7 e CNPq – 302866/2017-5 por todo suporte financeiro.

#### Referências

- AINI, I. N.; MISKANDAR, M. S.; Utilization of palm oil and palm product in shortenings and margarines. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109 (2007). pag 422-432.
- ALMEIDA, D. F. S. B. Desenvolvimento e aplicação de gorduras low trans em margarina e bolo tipo inglês. 2008. 179 p. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos): Faculdade de Engenharia de Alimentos-Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, Brasil.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 de dezembro de 2006b. Seção 1, página 8. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de origem Animal. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos.
- COBO, M. F. TD-NMR in Quality Control: Standard Applications. *Modern magnetic resonance.* 2017. p. 1-18.
- GARCIA, R. H. S.; FILGUEIRAS, G.; AZEVEDO, E.; COLNAGO, L. A. Power-optimized, time-reversal pulse sequence for a robust recovery of signals from rigid segments using time domain NMR. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, p. 101619, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ssmr.2019.101619>
- ROUSSEAU, D.; HILL, A. R.; MARANGONI, A. G. Restructuring butterfat through blending and chemical interesterification. 3. Rheology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 73, n. 8, p. 983-989, 1996.
- ROUX, C. Disponível em: <https://brasil.mintel.com/blog/noticias-mercado-alimentos-bebidas/manteiga-tem-futuro-promissor-no-brasil>. Acessado em: junho. 2019.
- VAN DUYNHOVEN, J. VODA, A.; WITEK, M.; VAN AS, H. Time-domain NMR applied to food products. In: *Annual reports on NMR spectroscopy.* Academic Press, 2010. p. 145-197.

**CONCENTRAÇÃO DE MACRO E MICROELEMENTOS DE AMÊNDOAS DE  
CASTANHEIRA-DO-BRASIL COLETADAS EM REGIÕES EXTRATIVISTAS DE  
RORAIMA**

P. V. P. Guimarães<sup>1,\*</sup>, M. F. B. Durigan<sup>2</sup>, G. F. de Carvalho<sup>3</sup>, T. Í. N. da Silva<sup>4</sup>, C. S. Marques<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (Rede Bionorte da Amazônia Legal), Universidade Federal de Roraima, Avenida Cap. Enê Garcez, 2413, 69310-000, Boa Vista, Roraima

<sup>2</sup> Empresa Brasileira Pesquisa Agropecuária, Embrapa Instrumentação, Rua 15 de novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Roraima, Rodovia BR 174 Km 12, 69300-000, Boa Vista, Roraima

<sup>4</sup> Bacharelado em Nutrição, Centro Universitário Estácio da Amazônia, Rua Jorn. Humberto Silva, 308, 69313-792, Boa Vista, Roraima

<sup>5</sup> Programa de Pós-graduação em Agroecologia, Universidade Estadual de Roraima, Rua Sete de Setembro, 231, 69306-530, Boa Vista, Roraima

\* Autor correspondente, e-mail: pedrovp@hotmai.com

**Resumo:** A castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) é uma importante árvore nativa amazônica e a qualidade nutricional de seus frutos pode apresentar grande variabilidade. Objetivou-se avaliar as concentrações de macro e microelementos presentes em amêndoas de castanheira-do-brasil de três diferentes áreas comerciais do estado de Roraima, visando obter informações nutricionais. Os frutos foram coletados nos municípios roraimenses de Caracaraí e São João da Baliza. Os ouriços foram coletados no chão, após desprendimento natural da árvore, e acondicionados em sacos próprios para o transporte até o laboratório de Pós Colheita e Agroindústria da Embrapa Roraima. Para análise de macro e microelementos as amostras foram desidratadas por secagem direta em estufa de ar quente. As análises de macro e microelementos foram realizadas por laboratório comercial. As principais diferenças de elementos entre as áreas estudadas estão nos elementos N, Ca, Mg, Cu e B. Há variabilidade dos elementos em amostras de amêndoas de *B. excelsa* para os genótipos avaliados nos municípios roraimenses de Caracaraí e São João da Baliza. Os genótipos avaliados nas áreas “JF”, “MVV” e “JL” apresentaram valores médios promissores para a maioria dos caracteres nutricionais avaliados, apresentando potencial para o melhoramento.

**Palavras-chave:** amêndoas, composição nutricional, elementos, segurança alimentar.

**MACRO AND MICROELEMENTS CONCENTRATION OF AMAZON ALMONDS  
COLLECTED IN RORAIMA EXTRACTIVIST REGIONS**

**Abstract:** The Amazon nut (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) is an important native Amazonian tree and the nutritional quality of its fruits can present great variability. The objective of this study was to evaluate the concentrations of macro and microelements present in its almonds from three different commercial areas of the Roraima state, aiming to obtain nutritional information. The fruits were collected in the municipalities of Caracaraí and São João da Baliza. The hedgehogs were collected on the ground, after natural detachment of the tree, and packed in bags suitable for transport to the Post Harvest and Agroindustry laboratory of Embrapa Roraima. For macro and microelements analysis the samples were dehydrated by direct drying in a hot air oven. Macro and microelement analyzes were performed by a commercial laboratory. The main element differences among the studied areas were in the elements N, Ca, Mg, Cu and B. There is an elemental variability in the samples of *B. excelsa* nuts for the evaluated genotypes for the municipalities of Caracaraí and São

João da Baliza. The genotypes evaluated in the “JF”, “MVV” and “JL” areas presented promising average values for most of the nutritional characters evaluated, presenting promising potential for improvement.

**Keywords:** almonds, nutritional composition, elements, food safety.

## 1. Introdução

Entre os produtos florestais não madeireiros da Amazônia, a amêndoa da castanheira-do-Amazônia (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) é o mais conhecido e solidamente estabelecido nos mercados doméstico e de exportação. Sua coleta é ainda realizada, quase que exclusivamente em florestas tropicais primárias (PERES et al., 2003; SALOMÃO, 2009). *B. excelsa* é uma árvore de grande porte que ocorre naturalmente em toda a Amazônia Legal. Em alguns estados é o principal produto extrativista não madeireiro de exportação (HOMMA, 2012). Em Roraima é frequente visualizar a presença de castanheira-do-brasil em áreas de pastagens ao longo das rodovias e “vicinais”. Nesses locais desflorestados, a espécie não foi cortada por estarem protegidas pela legislação federal (BRASIL, 2006), sobrevivendo no meio da paisagem desflorestada.

Para árvores de alto valor econômico, a exemplo de *B. excelsa*, uma mínima variação interanual podem ser fatores decisivos no sucesso comercial (KAINER et al., 2007). A amêndoa de *B. excelsa* é constituída de 60 a 70% de lipídeos (especialmente ácidos graxos poli-insaturados) e, também tem de 15 a 20% de proteínas de alto valor biológico (CARDARELLI; OLIVEIRA, 2000). Ainda assim, tem concentrações excelentes de Se, vitaminas do complexo B (SOUZA; MENEZES, 2004) e apresenta minerais essenciais para o organismo humano, como P, K, Ca, Mg, Zn, Mn e Cu (GONÇALVES et al., 2002). Pouco se tem registro sobre a variação desses elementos em diferentes regiões amazônicas. Deste modo, este trabalho teve como objetivo avaliar as concentrações de macro e microelementos presentes em amêndoas de castanheira-do-brasil de três diferentes áreas comerciais do estado de Roraima, visando obter maiores informações nutricionais.

## 2. Materiais e Métodos

Os frutos foram coletados nos municípios de Caracará e São João da Baliza. Em Caracará as coletas foram realizadas na área “JL”, pertencente a Fazenda Pau-Rainhas, na região do Itã (coordenadas geográficas 01° 48’ 58,0” de latitude Norte e 61° 07’ 41,0” de longitude Oeste, altitude de 50 m) e na área “MVV”, pertencente a Madeireira Vale Verde na região do Cujubim (coordenadas geográficas 01° 51’ 2,6” de latitude Norte e 61° 00’ 30,6” de longitude Oeste, altitude de 75 m). Em São João da Baliza, as amostras foram coletadas na área “JF” (coordenadas geográficas 00° 57’ 2” de latitude Norte e 59° 54’ 41” de longitude Oeste, altitude de 125 m). Os ouriços foram coletados no chão, após desprendimento natural da árvore, e acondicionados em sacos próprios para o transporte até o laboratório de Pós Colheita e Agroindústria da Embrapa Roraima, Boa Vista, Roraima, Brasil. Após a seleção foram separadas as amêndoas. Após a retirada da amêndoa, as amostras foram trituradas em processador para homogeneização.

Para análise de macro e microelementos as amostras foram desidratadas por secagem direta em estufa de ar quente, graduada na faixa de 100±5 °C, até peso constante, de acordo com o método do Instituto Adolf Lutz (2008). Estas foram acondicionadas em sacos de papel para encaminhamento ao laboratório comercial. As análises de macro e microelementos foram realizadas pelo laboratório comercial PIRASOLO na cidade de Piracicaba, São Paulo, Brasil, utilizando digestão sulfúrica para N e digestão nitro-perclórica para P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn. Utilizou-se colorimetria para análise de P, S e B, espectrofotometria de absorção atômica para análise de Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn, e para K, utilizou-se emissão fotometria de chama. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado com nove réplicas. Os tratamentos foram as regiões produtoras de castanheiras de municípios de roraimenses (JF, JL e MVV). Os dados foram validados através de análise de variância e as médias, quando significativas, foram comparadas pelo teste de Tukey (0,05), utilizando o ambiente R, versão 3.6.0 (R CORE TEAM, 2019).

### 3. Resultados e Discussão

Observaram-se coeficientes de variação entre 5,77 (P) e 37,91% (B) entre os elementos avaliados, indicando baixa a alta dispersão dos dados, e baixa a alta precisão do processo (PIMENTEL-GOMES, 2009). Verificou-se que os teores de macronutrientes de amêndoas de castanha-do-brasil apresentaram quantitativamente, a seguinte ordem  $N > K > P > Mg > S > Ca$  (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de macronutrientes de amêndoas castanha-do-brasil coletadas nos municípios roraimenses de Caracaraí e São João da Baliza.

Áreas	N	P	K	Ca	Mg	S
	(g 100 g <sup>-1</sup> )					
JF	2,58±0,31 b	0,59±0,02	0,62±0,07	0,21±0,02 b	0,32±0,02 b	0,26±0,08
JL	2,71±0,32 ab	0,58±0,04	0,61±0,11	0,24±0,03 ab	0,28±0,03 c	0,23±0,02
MVV	3,00±0,24 a	0,57±0,04	0,59±0,04	0,26±0,04 a	0,38±0,04 a	0,31±0,08
Média geral	2,77	0,58	0,61	0,24	0,33	0,27
C.V. (%)	10,60	5,77	12,96	12,94	9,95	26,35
Valor de p	0,017	0,415	0,740	0,013	0,001	0,081
D.M.S.	0,34	0,04	0,09	0,04	0,04	0,08

# Letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey (0,05). N = nitrogênio; P = fósforo; K = potássio; Ca = cálcio; Mg = magnésio; S = enxofre. C.V. = coeficiente de variação; D.M.S. = diferença mínima significativa; N = 9.

Houve diferença significativa (0,05) entre as áreas na concentração de N. As áreas avaliadas de Caracaraí apresentaram bons valores de N, principalmente, as amostras de MVV com 3,00±0,24 g por 100 g de amêndoa. Os dados são semelhantes aos observados por Bouvie et al. (2016), em material coletado de área de Reserva Legal em Itaúba, Mato Grosso, com média de 3,12 g de N por 100 g de amostra. A concentração de P não diferiu estatisticamente (0,05) entre as áreas estudadas, apresentando média geral de 0,58±0,03 g por 100 g de amêndoa. Os valores de P registrados foram superiores aos observados por Bouvie et al. (2016), com média de 0,36 g de P por 100 g de amostra. No entanto, os valores de P das áreas JF, JL e MVV são inferiores aos encontrados na tabela TACO, com média de 0,85 g por 100 g (UNICAMP, 2011).

A concentração de K também não diferiu estatisticamente (0,05) entre as áreas estudadas, apresentando média geral de 0,61±0,08 g de K por 100 g de amêndoa. Os valores de K das amêndoas das três áreas avaliadas são inferiores aos observados por Bouvie et al. (2016), com média de 0,94 g de K por 100 g de amostra e semelhantes aos encontrados na tabela TACO, com média de 0,65 g por 100 g (UNICAMP, 2011). Houve diferença significativa (0,05) entre as áreas para concentração de Ca. As áreas avaliadas de Caracaraí apresentaram bons valores de Ca, relativamente, com destaque para as amostras da área MVV, contendo, em média, 0,26±0,04 g de Ca por 100 g de amêndoa. Os dados são semelhantes aos observados por Bouvie et al. (2016), com média de 0,23 g de Ca por 100 g de amostra. Nota-se que os valores de Ca registrados nas três áreas de Roraima são superiores aos encontrados na tabela TACO, com média de 0,14 g de Ca por 100 g de amostra (UNICAMP, 2011).

Foi constatado que a diferença significativa (0,05) entre as amostras das áreas avaliadas ficou evidenciada na concentração de Mg. As áreas de Caracaraí apresentaram os menores (JL) e maiores (MVV) valores de Mg, com 0,28±0,03 e 0,38±0,04 g de Mg por 100 g de amêndoa, respectivamente. Os dados são inferiores aos observados por Bouvie et al. (2016), com média de 0,43 g de Mg por 100 g de amostra e semelhantes aos encontrados na tabela TACO, com média de 0,36 g de Mg por 100 g de amostra (UNICAMP, 2011). A concentração de S não diferiu estatisticamente (0,05) entre as áreas estudadas, apresentando média geral de 0,27±0,07 g por 100 g de amêndoa. Os dados aqui registrados foram semelhantes aos registrados por Bouvie et al. (2016), com média de 0,21 g de S por 100 g de amostra.

Santos (2012) avaliou a farinha parcialmente desengordurada de Castanha-do-brasil, produzida a partir de castanhas coletadas em Belém, Pará, na safra de 2009/2010. O autor verificou

a seguinte ordem nos teores de macroatomos  $K > P > Mg > Ca$ , que corrobora os resultados observados neste experimento. Entretanto, os valores entre os estudos apresentam diferença, sendo os de Santos (2012) superior para os resultados de P, K, Ca e Mg, com média geral de 1,08, 1,99, 0,65 e 0,80 g 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. Tal diferença pode ser justificada pela desidratação mais eficiente do material para a produção da farinha que, ao retirar a umidade do produto, eleva a concentração de elementos para uma mesma quantidade de massa. De qualquer maneira, as castanhas avaliadas são consideradas com boa qualidade de elementos, demandando maiores cuidados por parte dos compradores e produtores. Verificou-se que os teores de microatomos das amêndoas avaliadas apresentaram, quantitativamente, a seguinte ordem  $Fe > Zn > Mn > Cu > B$  (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios de microatomos de amêndoas de castanheira-do-brasil coletadas nos municípios roraimenses de Caracará e São João da Baliza.

Áreas	Cu	Fe	Zn	Mn	B
	(mg 100 g <sup>-1</sup> )				
JF	3,42±0,39 a	9,82±0,57	6,32±0,82	3,42±0,39	1,07±0,27 a
JL	2,49±0,28 c	9,42±0,72	6,09±0,75	2,49±0,28	1,03±0,44 a
MVV	2,98±0,16 b	10,18±0,83	6,40±0,48	3,04±1,29	0,56±0,27 b
Média geral	2,96	9,81	6,27	2,99	0,89
C.V. (%)	9,94	7,29	11,11	26,61	37,91
Valor de p	0,001	0,102	0,621	0,061	0,005
D.M.S.	0,35	0,84	0,82	0,94	0,40

# Letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey (0,05). Cu = cobre; Fe = ferro; Zn = zinco; Mn = manganês; B = boro; C.V. = coeficiente de variação; D.M.S. = diferença mínima significativa; N = 9.

Houve diferença significativa (0,05) entre as áreas na concentração de Cu. As amostras oriundas de São João da Baliza (JF) apresentaram os melhores, com média de 3,42±0,39 mg por 100 g de amêndoa, diferindo estatisticamente das amostras de Caracará, ambas com valores abaixo de 3,0 mg de Cu por 100 g de amêndoa. Os valores de Cu aqui registrados são superiores aos observados por Bouvie et al. (2016), com média de 2,35 mg de Cu por 100 g de amostra e aos encontrados na tabela TACO, com média de 1,79 mg de Cu por 100 g (UNICAMP, 2011). Não houve diferença estatística (0,05) entre as áreas extrativistas estudadas na concentração de Fe, apresentando média geral de 9,81±0,76 mg por 100 g de amêndoa. Os valores de Fe são superiores aos registrados na tabela TACO, com média de 2,3 mg por 100 g (UNICAMP, 2011).

A concentração de Zn também não diferiu (0,05) entre as áreas estudadas, apresentando média geral de 6,27±0,68 mg por 100 g de amêndoa. As amêndoas estudadas apresentaram mais Zn em sua composição do que as amêndoas citadas por Bouvie et al. (2016), com média de 5,62 mg por 100 g de Zn, e as citadas pela TACO, com média de 4,20 mg por 100 g (UNICAMP, 2011). Não houve diferença significativa (0,05) entre as áreas estudadas para a concentração de Mn, apresentando média geral de 2,99±0,86 mg por 100 g de amêndoa. Os valores de Mn de amêndoas avaliadas foram superiores aos da TACO (UNICAMP, 2011) e do estudo de Bouvie et al. (2016), com médias de 1,10 e 2,21 mg de Mn por 100 g amostras, respectivamente. Houve diferença significativa (0,05) entre as áreas para concentração de B. As amostras das áreas JF de JL apresentaram 1,07±0,27 e 1,03±0,44 mg de B por 100 g de amêndoa, respectivamente, valores muito superiores aos encontrados na área MVV. Os valores de B aqui encontrados foram inferiores aos observados por Bouvie et al. (2016), com média de 1,24 mg de B por 100 g de amostra.

Santos (2012) avaliando farinha parcialmente desengordurada de Castanha-do-brasil, em Belém, Pará, safra 2009/2010, constatou a seguinte ordem nos teores de microatomos  $Zn > Fe > Cu > Mn$ , que corrobora com os resultados observados neste experimento. Entretanto, os valores entre os estudos apresentam diferença, sendo Santos (2012) inferior na concentração de Fe, com média geral de 8,22 mg 100 g<sup>-1</sup>, e superior nos resultados de Zn, Cu e Mn, com média geral de 11,8,

2,00 e 1,85 mg 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. Bouvie et al. (2016) constataram os gradientes de concentração de macro e microelementos de N > K > Mg > P > Ca > S e Zn > Cu > Mn > B, respectivamente, que são relativamente semelhantes aos encontrados neste experimento.

#### 4. Conclusões

Há variabilidade de macro e microelementos, em amostras de amêndoas de *B. excelsa* dos genótipos avaliados, oriundos dos municípios roraimenses de Caracará e São João da Baliza. As principais diferenças de elementos entre as áreas estão em N, Ca, Mg, Cu e B. Os genótipos avaliados nas áreas “JF”, “MVV” e “JL” apresentaram valores médios promissores para a maioria dos caracteres nutricionais avaliados, apresentando potencial para valorização da comercialização e do melhoramento.

#### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

#### Referências

- BOUVIE, L. et al. Caracterização físico-química dos frutos de castanheira do Brasil. *Nativa*, v. 4, n. 2, p. 107-111, 2016.
- BRASIL. Decreto n. 5.975, de 30 de novembro de 2006. Diário Oficial da República Federativa de Brasil, Brasília, DF (2006 dez 01); Sec. 1: 1-3.
- CARDARELLI, H. R.; OLIVEIRA, A. J. Conservação do leite de castanha-do-Pará. *Scientia Agricola*, v. 57, n. 4, p. 617-622, 2000.
- GONÇALVES, J. F. C. et al. Primary metabolism components of seeds from Brazilian Amazon tree species. *Brazilian Journal Plant Physiology*, v.14, n.2, p.139- 142, 2002.
- HOMMA, A. K. O. Extrativismo vegetal ou plantio: qual a opção para a Amazônia? *Estudos avançados*, v. 26, n. 74, p.167-186, 2012.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. (4 ed.) São Paulo, SP: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- KAINER, K. A.; WADT, L. H. O.; STAUDHAMMER, C. L. Explaining variation in Brazil nut fruit production. *Forest Ecology and Management*, v. 250, p. 244-255, 2007.
- PERES, C. A. et al. Demographic threats to the sustainability of Brazil nut exploitation. *Science*, v. 302, p.2112-2114, 2003.
- PIMENTEL-GOMES, F. Curso de estatística experimental. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451 p.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2019. Disponível em: <https://www.r-project.org/>.
- SALOMÃO, R. P. Densidade, estrutura e distribuição espacial da castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H & B) em uma floresta tropical de platô na Amazônia Setentrional. *Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi*, v. 4, n. 1, p. 11-25, 2009.
- SANTOS, O. V. dos. Estudo das potencialidades da castanha-do-brasil: produtos e subprodutos. 2012. Tese (Doutorado em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. Universidade de São Paulo.
- SOUZA, M. L.; MENEZES, H. C. Processamentos de amêndoa e torta de castanha-do-brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 24, n. 1, p. 120-128, 2004.
- UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: UNICAMP/NEPA, 2011. 161 p.



**COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO ENTRE COMPONENTES DE QUALIDADE AGROINDUSTRIAL DE POLPAS DE CUPUAÇUZEIROS COM DIFERENTES NÍVEIS DE SUSCEPTIBILIDADE À VASSOURA-DE-BRUXA**P. V. P. Guimarães<sup>1,\*</sup>, M. F. B. Durigan<sup>2,3</sup>, H. E. de Lima Primo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (Rede Bionorte da Amazônia Legal), Universidade Federal de Roraima, Avenida Cap. Enê Garcez, 2413, 69310-000, Boa Vista, Roraima

<sup>2</sup> Empresa Brasileira Pesquisa Agropecuária, Embrapa Instrumentação, Rua 15 de novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> Empresa Brasileira Pesquisa Agropecuária, Embrapa Roraima, Rodovia BR 174 Km 8, 69301-970, Boa Vista, Roraima

\* Autor correspondente, e-mail: pedrovpg@hotmail.com

**Resumo:** A cultura do cupuaçu [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K.Schum.] é uma das mais populares e importantes da região amazônica. No entanto, raros são os relatos relacionando a qualidade da polpa e os diferentes níveis de suscetibilidade das plantas à doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa* (Stahel), responsável por grandes prejuízos para a cultura. Deste modo, objetivou-se avaliar se há associação entre a qualidade agroindustrial da polpa e os níveis de susceptibilidade ao ataque de vassoura-de-bruxa de acessos de cupuaçuzeiros, por meio de avaliação dos coeficientes de correlação dos componentes. Os frutos de cupuaçu avaliados foram produzidos em sistema agroflorestral durante a safra 2015/2016. Foram avaliados os teores de sólidos solúveis e acidez titulável, a relação SS:AT, pH, coloração, condutividade elétrica, total de sais dissolvidos, macro e microelementos. As polpas de cupuaçu analisadas neste trabalho estavam em conformidade com o padrão de qualidade estabelecido pela legislação vigente, registrando-se diferenças significativas entre as características físico-químicas. Entre as características de qualidade agroindustrial de polpas de cupuaçu e a porcentagem da infestação de vassoura-de-bruxa em cupuaçuzeiros, houve correlações, negativas e positivas significativas, variando de moderadas a muito fortes. Estes dados são importantes para uso em um futuro melhoramento vegetal.

**Palavras-chave:** *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K.Schum., *Moniliophthora perniciosa* (Stahel), segurança alimentar, pós-colheita.

**CORRELATION COEFFICIENTS BETWEEN AGROINDUSTRIAL QUALITY COMPONENTS OF CUPUAÇU PULP WITH DIFFERENT LEVELS OF WITCH BROOM SUSCEPTIBILITY**

**Abstract:** The cupuaçu culture [*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) K.Schum.] is one of the most popular and important in the Amazon region. However, there are few reports relating to pulp quality and different levels of plant susceptibility to witches' broom disease [*Moniliophthora perniciosa* (Stahel)], which is responsible for major crop damage. Thus, the objective was to evaluate if there is an association between the agroindustrial quality of the pulp and the levels of susceptibility to witches' broom attack by evaluating the correlation coefficients of the components. The evaluated cupuaçu fruits were produced in an agroforestry system during the 2015/2016 harvest. The most productive plants were selected, with fruits containing the largest amount of stored pulp. Soluble solids, titratable acidity, SS:AT ratio, pH, color, electrical conductivity, total dissolved salts, macro and microelements were evaluated. The cupuassu pulps analyzed in this work were in compliance with the quality standard established by the current legislation, registering significant differences between the physicochemical characteristics. There were significant negative

and positive correlations between the agroindustrial quality characteristics of cupuassu pulps and the percentage of witches' broom infestation in cupuassu trees, ranging from moderate to very strong. This data is important for use in future plant breeding.

**Keywords:** *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K.Schum., *Moniliophthora perniciosa* (Stahel), safety food, postharvest.

## 1. Introdução

As tendências do mercado mundial de alimentos apontam para alto crescimento no consumo de produtos naturais, como frutas e hortaliças (BUENO; BACCARIN, 2012), incentivando cada vez mais a agricultura, especialmente, as de base alternativa, sendo fonte de trabalho, emprego, renda, conservação ambiental e garantia de segurança alimentar. A possibilidade do consórcio de frutíferas com outros cultivos de interesse econômico é interessante e vale ser destacado, uma vez que a agricultura baseada na biodiversidade é uma alternativa ao monocultivo. Duru; Theron; Fares (2015) enfatizam que sua atratividade e potencial aumentam à medida que a pressão social aumenta para a gestão sustentável do meio ambiente e da agricultura.

A agricultura familiar é comumente desenvolvida dentro de Sistemas Agroflorestais (SAFs) na Amazônia, muito utilizados por comunidades indígenas, caboclas, tradicionais e ribeirinhas. O cupuaçu [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K.Schum.] é destaque na composição de sistemas de produção, sendo utilizando tanto para alimentação quanto para comercialização. Esta frutífera tem amplas possibilidades de mercado, dado a diversidade do aproveitamento de amêndoas e da polpa na agroindústria (FRAZÃO; VIÉGAS, 2006). O cupuaçu tem características tecnológicas consideradas ótimas, como alto grau de rendimento em polpa e boa qualidade sensorial, dado pelo sabor caracteristicamente forte, agradável e muito apreciado pelos consumidores.

Entretanto, a fitossanidade ainda é um entrave para o desenvolvimento e estabelecimento da cultura do cupuaçu. A vassoura-de-bruxa, principal doença de cupuaçuzeiros, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa* (Stahel), reduz significativamente a produção econômica e, em casos extremos, elimina a produção (FALCÃO; MORAIS; CLEMENT, 1999). Em Roraima, a produtividade desta cultura tem decrescido vertiginosamente nos últimos anos devido, principalmente, à utilização de materiais suscetíveis a este fungo (LIMA et al., 2014). Plantas com resistência e tolerância ao ataque de vassoura-de-bruxa estão sendo inseridas, porém, não há relatos sobre a qualidade da polpa destes frutos.

De acordo com Vêras; Lima; Gasparotto (1997) nas vassouras verdes, ou imaturas, das plantas adultas, na época de floração, verifica-se abundante emissão de botões florais, com posterior aborto das flores. Há paralisação no crescimento dos frutos jovens, seguida de “mumificação” ou paralisação do desenvolvimento e morte do fruto. Quando o fungo ataca os frutos com maturidade fisiológica em fase adiantada, observam-se lesões escuras no epicarpo, que correspondem internamente à região de apodrecimento do endocarpo (polpa), a qual passa da cor creme para marrom, sem aceitação pelo mercado.

Há poucos relatos na literatura científica relacionando a qualidade do fruto de cupuaçu e o nível de suscetibilidade das plantas ao ataque do *M. perniciosa*. Acredita-se que possa haver diferença entre as características físico-químicas das polpas de cupuaçuzeiros com diferentes níveis de ataque do fungo, principalmente quanto à quantidade e a qualidade de seus sais minerais. Deste modo, objetivou-se avaliar se há associação entre a qualidade agroindustrial da polpa e os níveis de susceptibilidade ao ataque de vassoura-de-bruxa, por meio de avaliação dos coeficientes de correlação dos componentes.

## 2. Materiais e Métodos

Os frutos de cupuaçu avaliados neste estudo foram produzidos no Campo Experimental Confiança da Embrapa Roraima durante a safra 2015/2016, em sistema agroflorestal, contendo plantas de castanha-da-Amazônia (*Bertholletia excelsa* Bonpl.), pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth),

cupiúba (*Goupia glabra* Aubl.), andiroba (*Carapa guyanensis* Oliv.), café (*Coffea canephora* Pierre ex A.Froehner), saman [*Samanea saman* (Jacq.) Merr.], abiu [*Micropholis venulosa* (Mart. & Eichler ex Miq.) Pierre] e gliricídia [*Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp.]. A área de produção está localizada no município de Cantá, Roraima, Brasil, nas coordenadas geográficas de referência 02°15'00" N e 60°39'54" W, 100 m de altitude.

No sistema agroflorestral estudado, a partir de 2006 os cupuaçuzeiros começaram a apresentar sintomas de infestação natural da doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*. Em maio de 2013, a equipes da Embrapa Roraima realizaram avaliações da incidência e severidade máxima da vassoura-de-bruxa nos cupuaçuzeiros, utilizando o método do diagrama ilustrativo proposto por Souza et al. (2009). Para verificar a susceptibilidade e a resposta da planta à tratamentos culturais, no mesmo ano, realizaram-se em plantas infectadas com vassoura-de-bruxa poda drástica, com cortes superiores a 40% da copa. Nos cupuaçuzeiros com alta incidência da doença realizou-se eliminação total da copa. Foi feito o controle fitossanitário aplicando pasta bordalesa nas áreas injuriadas pelas podas, visando controlar novas contaminações. Todo material vegetal contaminado foi retirado da área de produção. Realizou-se adubação mineral em cada planta com ureia, superfosfato simples, cloreto de potássio e *fritted trace elements* (FTE BR 12).

Nos anos posteriores, a reincidência da doença foi acompanhada, mantendo-se os tratamentos culturais. Baseado nos estudos preliminares efetuados nos últimos 5 anos pela Embrapa Roraima (LIMA et al., 2014), as plantas e seus frutos foram classificados quanto à susceptibilidade ao ataque da doença vassoura-de-bruxa em quatro níveis: resistente (R) sem ataque (0%); moderadamente resistente (MR) com 1 a 13% de ataque; susceptível (S) com 14 a 50% de ataque; e altamente susceptível (AS) com ataques acima de 51%. Foram selecionadas as plantas mais produtivas (AS = acessos 21, 34, 49, 64 e 298; S = acessos 6, 28, 63, 266, 295; MR = acessos 25, 35, 56, 265 e 30; R = acessos 74, 110, 248, 292 e 297), com frutos contendo a maior quantidade de polpa armazenada e, selecionando-se cinco plantas por nível de susceptibilidade.

Durante a safra, os frutos foram colhidos semanalmente diretamente do chão e encaminhados para avaliação de qualidade no Laboratório de Pós-Colheita e Agroindústria da Embrapa Roraima. No local os frutos foram armazenados em sala climatizada ( $24 \pm 1$  °C) até o beneficiamento (tempo máximo 40 horas), quando foram higienizados com água clorada (12 ml de hipoclorito de sódio em 100 L de água), despolpados manualmente, com auxílio de tesouras, e as polpas acondicionadas em embalagens plásticas, identificadas individualmente e mantidas congeladas em freezer (-18 °C) até a avaliação. As amostras identificadas foram descongeladas e homogeneizadas para avaliação dos teores de sólidos solúveis (SS) e acidez titulável (AT), e o potencial hidrogeniônico (pH), conforme métodos indicados pelo Instituto Adolf Lutz (2008).

Na análise eletrolítica das polpas, a condutividade elétrica e o total de sólidos solúveis foram mensurados em condutivímetro microprocessado (Modelo Q-405M), calibrado com solução padrão de KCl com  $1418 \mu\text{S cm}^{-1}$ . Na análise colorimétrica, a cor [luminosidade ( $L^*$ ); cromaticidade ( $C^*$ ) e ângulo *hue* ( $h^\circ$ )] das polpas foi mensurada pela leitura direta com colorímetro (Modelo CR-410), calibrado em placa padrão ( $Y = 87,2$ ;  $x = 0,3167$ ;  $y = 0,3237$ ), com resultados expressos no sistema CIE  $L^* a^* b^*$ .

Para análise de macro e microelementos, as polpas de cupuaçuzeiros foram desidratadas por secagem direta em estufa de ar quente, calibrada para  $105 \pm 5$  °C até peso constante, de acordo com método do Instituto Adolf Lutz (2008). Essas foram acondicionadas em sacos de papel e encaminhadas ao laboratório comercial PIRASOLO, na cidade de Piracicaba, São Paulo, Brasil. As análises dos elementos foram realizadas utilizando digestão sulfúrica para N e digestão nitro-perclórica para P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn. Utilizou-se colorimetria para análise de P, S e B, espectrofotometria de absorção atômica para análise de Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn, e para K, utilizou-se emissão fotometria de chama. Objetivando-se avaliar as correlações entre os componentes de qualidade agroindustrial e os níveis de susceptibilidade (porcentagem de infestação), montou-se a matriz de correlação de Pearson utilizando o ambiente R, versão 3.6.0 (R CORE TEAM, 2019).

### 3. Resultados e Discussão

Por meio da análise de correlação de Pearson verificou-se que, possivelmente, houve associação entre a qualidade agroindustrial da polpa de cupuaçuzeiro e os níveis de susceptibilidade (porcentagem de infestação) da planta ao ataque de vassoura-de-bruxa. Das 210 correlações possíveis (Tabela 1) houve significância em 42 (20%), sendo 19 significativas ao nível de 5% e 23 significativas ao nível de 1%. A maioria das correlações é positiva (29 = 13,8% do total de associações possíveis).

Tabela 1. Matriz de correlação linear simples das características de qualidade de polpas de cupuaçu e porcentagem de infestação de vassoura-de-bruxa em cupuaçuzeiros cultivados em sistema agroflorestal no Campo Experimental Confiança, no município de Cantá, Roraima, Brasil.

	Infestação	SS	AT	SS:AT	pH	L*	C*	h°	CE	TSD	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Zn	Mn	B	
Infestação	1																					
SS	0,4 <sup>ns</sup>	1																				
AT	0,2 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	1																			
SS:AT	-0,1 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	-0,9 <sup>**</sup>	1																		
pH	0,1 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	-0,6 <sup>*</sup>	0,7 <sup>**</sup>	1																	
L*	0,4 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	1																
C*	-0,0 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>**</sup>	-0,0 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	0,5 <sup>ns</sup>	1															
h°	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	-0,4 <sup>ns</sup>	-0,4 <sup>ns</sup>	-0,4 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	1														
CE	0,5 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	-0,0 <sup>ns</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	1													
TSD	0,7 <sup>*</sup>	0,5 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>*</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	1												
N	-0,7 <sup>**</sup>	-0,6 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	-0,6 <sup>ns</sup>	-0,6 <sup>*</sup>	1										
P	-0,8 <sup>**</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	-0,0 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	0,8 <sup>**</sup>	1										
K	-0,2 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	-0,4 <sup>ns</sup>	0,45 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>**</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	1									
Ca	-0,7 <sup>**</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	-0,0 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	-0,4 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>*</sup>	0,7 <sup>**</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	1								
Mg	-0,8 <sup>**</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	-0,0 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>*</sup>	0,9 <sup>**</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>**</sup>	0,7 <sup>**</sup>	1							
S	-0,3 <sup>ns</sup>	-0,0 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>*</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>*</sup>	1						
Cu	-0,6 <sup>*</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,6 <sup>ns</sup>	0,8 <sup>**</sup>	0,7 <sup>**</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,10 <sup>ns</sup>	1					
Fe	-0,8 <sup>**</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	-0,0 <sup>ns</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	0,5 <sup>ns</sup>	-0,0 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>*</sup>	0,7 <sup>**</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	0,5 <sup>ns</sup>	0,70 <sup>*</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>*</sup>	1				
Zn	-0,6 <sup>*</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	-0,1 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	0,5 <sup>ns</sup>	0,8 <sup>**</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>*</sup>	0,9 <sup>**</sup>	0,8 <sup>**</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>*</sup>	1			
Mn	-0,8 <sup>**</sup>	-0,3 <sup>ns</sup>	-0,6 <sup>ns</sup>	0,5 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	-0,4 <sup>ns</sup>	-0,0 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	-0,6 <sup>ns</sup>	-0,9 <sup>**</sup>	0,6 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>*</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	0,5 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	1		
B	-0,7 <sup>*</sup>	-0,4 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	-0,4 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,5 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>**</sup>	-0,4 <sup>ns</sup>	-0,2 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>*</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	0,5 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>**</sup>	0,1 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>*</sup>	0,5 <sup>ns</sup>	1	

SS = sólidos solúveis; AT = acidez titulável; SS:AT = relação sólidos solúveis/acidez titulável; pH = potencial hidrogeniônico; CE = condutividade elétrica; TSD = total de sais dissolvidos; L\* = luminosidade; C\* = cromaticidade; h° = ângulo hue; N = nitrogênio; P = fósforo; K = potássio; Ca = cálcio; Mg = magnésio; S = enxofre; Cu = cobre; Fe = ferro; Zn = zinco; Mn = manganês; B = boro; ns = não significativo; \* = significativo a 5% de probabilidade; \*\* = significativo a 1% de probabilidade.

Das correlações significativas 17 são consideradas moderadas (40,5%), 23 fortes (54,8%) e 2 muito fortes (4,7%). Houve correlação positiva entre a porcentagem de infestação de vassoura-de-bruxa e o total de sais dissolvidos ( $r = 0,70^*$ ), indicando que cupuaçuzeiros com maiores infestações de vassoura-de-bruxa produziram frutos com maiores teores de sais dissolvidos nas polpas estudadas. No entanto, verificou-se correlação negativa da porcentagem de infestação de vassoura-de-bruxa com as concentrações de N ( $r = -0,72^{**}$ ), P ( $r = -0,84^{**}$ ), Ca ( $r = -0,71^{**}$ ), Mg ( $r = -0,77^{**}$ ), Cu ( $r = -0,62^*$ ), Fe ( $r = -0,79^{**}$ ), Zn ( $r = -0,61^*$ ), Mn ( $r = -0,84^{**}$ ) e B ( $r = -0,67^*$ ), indicando que plantas mais susceptíveis à infestação de vassoura-de-bruxa, apresentaram menores concentrações destes elementos nas polpas desidratadas.

Das correlações altamente significativas ( $p < 0,01$ ), destacamos uma que foi negativa entre a relação SS:AT e AT ( $r = -0,92^{**}$ ) e outra positiva entre Zn e Mg ( $r = 0,90^{**}$ ). Notou-se que à medida que as polpas de cupuaçu apresentaram maiores teores de Mg, os valores médios dos teores de Zn, também aumentaram proporcionalmente. A associação do índice de maturação (relação SS:AT) com a acidez titulável já era esperada, pois, AT é utilizada no cálculo para a obtenção deste índice. Houve correlação forte positiva entre nitrogênio e cobre ( $r = 0,83^{**}$ ). Destaca-se que estes dois elementos foram encontrados em maiores concentrações em polpas de frutos de plantas de cupuaçuzeiros resistentes ao ataque de vassoura-de-bruxa. De acordo com Dechen; Haag; Carmello (1991), o cobre tem ação na redução e/ou fixação de nitrogênio em tecidos vegetais, o que explica a associação entre os elementos neste estudo. Houve correlação forte positiva entre os teores dos macroelementos S e Mg ( $r = 0,70^*$ ), porém, somente significativa ao nível de 5% de probabilidade,

o que não a torna, menos importante, visto que o S e o Mg desempenham funções estruturais na polpa. Os dados aqui registrados apontam para o crescimento proporcional dos teores de S e Mg nas polpas de cupuaçuzeiros.

#### 4. Conclusões

Há correlações negativas e positivas significativas, entre as características de qualidade agroindustrial de polpas de cupuaçu e a porcentagem da infestação de vassoura-de-bruxa em cupuaçuzeiros, variando de moderadas a muito fortes. As correlações positivas mais significativas são entre a porcentagem de infestação de vassoura-de-bruxa e o total de sais dissolvidos, Zn e Mg e entre S e Mg. As correlações negativas mais importantes são entre a porcentagem de infestação de vassoura-de-bruxa e as concentrações de B, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, N, P e Zn.

#### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (projeto n. 445741/2014-7MCTI/CNPQ/Universal 14/2014), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Bolsa Demanda Social do primeiro autor), a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e à Petrobras pelo patrocínio através do programa socioambiental (Projeto Cupuaçu Forte/n.º 5850.0102917.16.2).

#### Referências

- BUENO, G.; BACCARIN, J. G. Participação das principais frutas brasileiras no comércio internacional: 1997 a 2008. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 34, n. 2, p. 424-434, 2012.
- DECHEN, A. R.; HAAG, H. P.; CARMELLO, Q. A. de C. Funções dos micronutrientes nas plantas. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. de. *Micronutrientes na agricultura*. Piracicaba: POTAFOS/CNPq, 1991.
- DURU, M.; THEROND, O.; FARES, M. Designing agroecological transitions; a review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 35, p. 1237–1257, 2015.
- FALCÃO, M. de A.; MORAIS, R. R. de; CLEMENT, C. R. Influência da vassoura de bruxa na fenologia do cupuaçuzeiro. *Acta Amazonica*, v. 29, n. 1, p. 13-19, 1999.
- FRAZÃO, D. A. C.; VIÉGAS, I. de J. M. Cupuaçuzeiro: Nutrição, Calagem e Adubação. Circular Técnica n.º 43, 6 p. Belém, Pará, 2006.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.
- LIMA, H. E.; ALBUQUERQUE, T. C. S. de; SANTOS, V. A. dos; LINS, D. C. M.; CARMO, I. L. G. S. Severidade da vassoura-de-bruxa em plantas de cupuaçuzeiro após a realização de poda drástica. In: *Anais do Congresso Brasileiro de Fruticultura*, 23, 2014, Cuiabá. Fruticultura: oportunidades e desafios para o Brasil. [S.l.]: SBF, 2014.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2019. Disponível em: <https://www.r-project.org/>.
- SOUZA, M. G.; SOUZA, A. G. C. S.; ARAÚJO, J. C. A.; SOUSA, N. R.; LIMA, R. M. B. Método para avaliação da severidade da vassoura-de-bruxa em cupuaçuzeiro em condições de campo. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2009. 11p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 10).
- VÉRAS, S. M.; LIMA, M. I. P. M.; GASPAROTTO, L. Doenças de fruteiras da Amazônia. In: KIMATI, H.; AMORIN, A.; BERGAMIN FILHO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. *Manual de fitopatologia*. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. 774p.

**SEMENTES DE MANGA: MATÉRIAS-PRIMAS PARA EMBALAGENS  
BIODEGRADÁVEIS**

P. E. F. Melo<sup>1</sup>, A. P. M. Silva<sup>1</sup>, A. V. Oliveira<sup>1</sup>, M. S. M. Souza Filho<sup>2</sup>, E. S. Brito<sup>2</sup>, H. M. C. Azeredo<sup>2,3,\*</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Ceará, Depto. Eng. Química, Campus Pici, bloco 709, 60455-760, Fortaleza, CE

<sup>2</sup> Embrapa Agroindústria Tropical, R. Dra. Sara Mesquita, 2270, 60511-110, Fortaleza, CE

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, R. 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: [henriette.azeredo@embrapa.br](mailto:henriette.azeredo@embrapa.br)

**Resumo:** A industrialização de mangas gera subprodutos (casca e semente) que correspondem a quase metade do peso dos frutos, e que são geralmente descartados, o que gera problemas ambientais, além de constituir desperdício de materiais de alto valor agregado. O grupo trabalhou no isolamento de vários compostos de sementes de manga (amido, gordura, fenólicos e nanocristais de amido e celulose). Os componentes foram usados na obtenção de filmes com potencial para aplicação como embalagens biodegradáveis. O amido foi usado como matriz; os nanocristais de amido (NCA) e de celulose (NCC), como reforço; os fenólicos, como agentes antioxidantes e absorvedores de luz UV; e a gordura, como hidrofobizante. Os rendimentos obtidos foram: amido, gordura e fenólicos, 39, 11 e 17% respectivamente (com base nas amêndoas), NCA, 24% (base amido); NCC, 16% (base tegumento). A adição de nanocristais melhorou as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes. O aumento da proporção NCC/NCA resultou em filmes com maior módulo e melhor barreira a vapor de água. Por sua vez, os fenólicos e gordura prejudicaram as propriedades mecânicas, mas melhoraram a barreira. Os fenólicos também conferiram propriedades antioxidantes e de absorção de luz UV, o que pode ser explorado para proteção de alimentos oxidáveis.

**Palavras-chave:** biopolímeros, biorrefinaria, polissacarídeos, filmes biodegradáveis.

**MANGO STONES: RAW MATERIALS FOR BIODEGRADABLE PACKAGING**

**Abstract:** The team has isolated several compounds from mango stones – namely, starch, fat, phenolic compounds, and nanocrystals (from starch and cellulose). The components have been used to obtain films for biodegradable (or even edible) food packaging purposes. Starch has been used as the film matrix; the nanocrystals, as reinforcing agents; the phenolics compounds, as antioxidant and UV-absorbing agents; and the fat, as hydrophobic phase (although the phenolics have presented a better performance to reduce water vapor permeability). This study presents the yields from each fraction, as well as some film formulations and corresponding properties.

**Keywords:** biopolymers, biorefinery, polysaccharides, biodegradable films.

**1. Introdução**

A agroindústria de frutos tropicais representa uma importante atividade produtiva para o desenvolvimento socioeconômico do Brasil, dividindo-se em duas rotas: frutas para consumo *in natura* e industrializadas. O Brasil é o sétimo maior produtor mundial de manga, produzindo anualmente cerca de 1.2 milhão de toneladas (UNCTAD, 2016) - com cerca de 90% da produção absorvida pelo mercado interno. Assumindo uma estimativa de perdas de 20-30% da produção, a perda anual é provavelmente da ordem de 300 mil toneladas. A Tommy Atkins é a variedade mais produzida. Além do consumo *in natura*, mangas são processadas a vários produtos (sucos, néctares, polpas, entre outros). Não se encontram dados disponíveis sobre volume anual de processamento,

mas, estimando-se que 5% da produção seja processada, isso resultaria em cerca de 60 mil toneladas de manga junto às agroindústrias. O processamento gera subprodutos (casca e semente) correspondente a cerca de 40-45% do peso dos frutos. Esses subprodutos não podem ser acumulados indefinidamente, devendo ser dispostos apenas após tratamento adequado para atender à legislação ambiental, o que implica em mais custos. Além dos potenciais problemas ambientais, o descarte de subprodutos é um desperdício de materiais de alto valor potencial agregado.

A forma mais antiga e mais comum de explorar subprodutos da agroindústria é por meio de seu uso para ração animal. Por outro lado, uma abordagem mais recente (e mais racional) é o processamento desses subprodutos de forma a fracionar seus componentes de alto valor comercial, transformando resíduos em produtos de interesse comercial e industrial, dentro do conceito de biorrefinaria. Este conceito incorpora a conversão integral de recursos, notadamente como fonte de macromoléculas, para obtenção de produtos processados com valor agregado, com base na minimização de impactos ambientais e maximização do uso do recurso.

Este trabalho reúne dados coletados até o momento de um projeto da Embrapa (“Exploração de subprodutos do processamento industrial de manga cv. Tommy Atkins para obtenção de insumos e materiais de interesse industrial”, Macroprograma 2), incluindo rendimentos obtidos de diferentes frações, assim como formulações usadas para obtenção de alguns dos filmes produzidos e as propriedades resultantes.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Obtenção das diferentes frações

As sementes de manga foram decorticadas. As amêndoas foram trituradas, secas e moídas, formando uma farinha, a partir da qual foram extraídos sequencialmente a gordura (em Soxhlet, com hexano), os fenólicos (Soxhlet, com metanol) e o amido (com solução de NaOH). A composição de ácidos graxos da gordura foi avaliada em cromatógrafo a gás Varian GC CP3380, e a composição do extrato fenólico, por UPLC-MS. Detalhes da metodologia foram descritos por Melo et al. (2019).

Nanocristais de amido (NCA) foram obtidos a partir do amido das amêndoas por hidrólise ácida com uma mistura (razão volumétrica 1:1) de HCl 3,16 M e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 3,16 M a 40°C por 5 dias. A suspensão foi submetida a seis ciclos de centrifugação, homogeneização do precipitado e sonicação (20 min, 450 W), e depois foi dialisada em água destilada até pH 7 e homogeneizada em Ultra-Turrax. Os detalhes foram descritos por Oliveira et al. (2018).

Os tegumentos foram usados para obtenção de lignina e nanocristais de celulose (NCC). Os tegumentos secos e triturados foram submetidos a polpação acetosolv, que gerou o licor negro (rico em lignina) e a polpa acetosolv. A polpa foi branqueada com solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e NaOH e hidrolisada com uma mistura de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 11,3 M e HCl 8 M (razão volumétrica 3:1) a 45 °C por 60 min. A suspensão foi centrifugada, e o precipitado foi lavado e novamente centrifugado (mais duas vezes). O precipitado final foi adicionado de água deionizada, sonicado e dialisado, resultando na suspensão de NCC. O licor negro, por sua vez, foi concentrado em evaporador rotativo, para recuperação da lignina. Detalhes da metodologia foram descritos por Silva et al. (2019).

### 2.2. Obtenção dos filmes

Filmes de amido com NCA e/ou NCC: Foram feitos filmes com amido, 25% de glicerol (com base na massa seca de amido) e diferentes proporções (0-6%) de NCA e/ou NCC (diferentes proporções), segundo um delineamento composto central, como descrito por Silva et al. (2019).

Filmes antioxidantes: Foram feitos filmes à base de amido com diferentes teores de gordura e fenólicos, segundo um delineamento de misturas (simplex-centroide), como descrito por Melo et al. (2019).

## 3. Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os rendimentos e algumas características das frações isoladas a partir

de amêndoa ou tegumento de semente de manga. Os NCA apresentaram morfologia quase-esférica (Oliveira et al., 2018; Silva et al., 2019). Entre os compostos fenólicos, predominaram ácido gálico e derivados, e os principais ácidos graxos da gordura foram o oleico (41%) e o esteárico (36%) (Melo et al., 2019). A gordura tem composição semelhante à da manteiga de cacau, embora com menor teor de ácido palmítico (Sonwai et al., 2014).

Tabela 1. Rendimentos e principais características das frações isoladas.

Fração	Determinação	Média ± desvio-padrão
Amido	Rendimento (% , base amêndoas secas)	38,8 ± 3,49
	Amilose (%)	25,1 ± 1,95
	Rendimento (% , base amido)	24,4 ± 2,74
NCA	Tamanho de partículas (nm)	67,1 ± 21,7
	Potencial zeta (mV)	-24,2 ± 3,13
	Rendimento (% , base tegumento seco)	15,8 ± 2,11
NCC	Razão de aspecto (L/d)	15,0
	Potencial zeta (mV)	-54,3 ± 4,04
Lignina	Rendimento (% , base tegumento seco)	15,1
Gordura	Rendimento (% , base amêndoas secas)	10,9 ± 1,80
Fenólicos	Rendimento (% , base amêndoas secas)	16,7 ± 2,28

A Figura 1 indica como os filmes de amido foram afetados pela adição de diferentes concentrações de NCA e/ou NCC. Como esperado, a adição de nanocristais melhorou as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes. O aumento da proporção NCC/NCA resultou em filmes com maior módulo (o que provavelmente se deve à sua morfologia, que resulta em maior L/d) e menor permeabilidade a vapor de água. A combinação de nanocristais resultou em melhores propriedades que as obtidas pela adição apenas de NCA de um trabalho anterior do grupo (Oliveira et al., 2018).

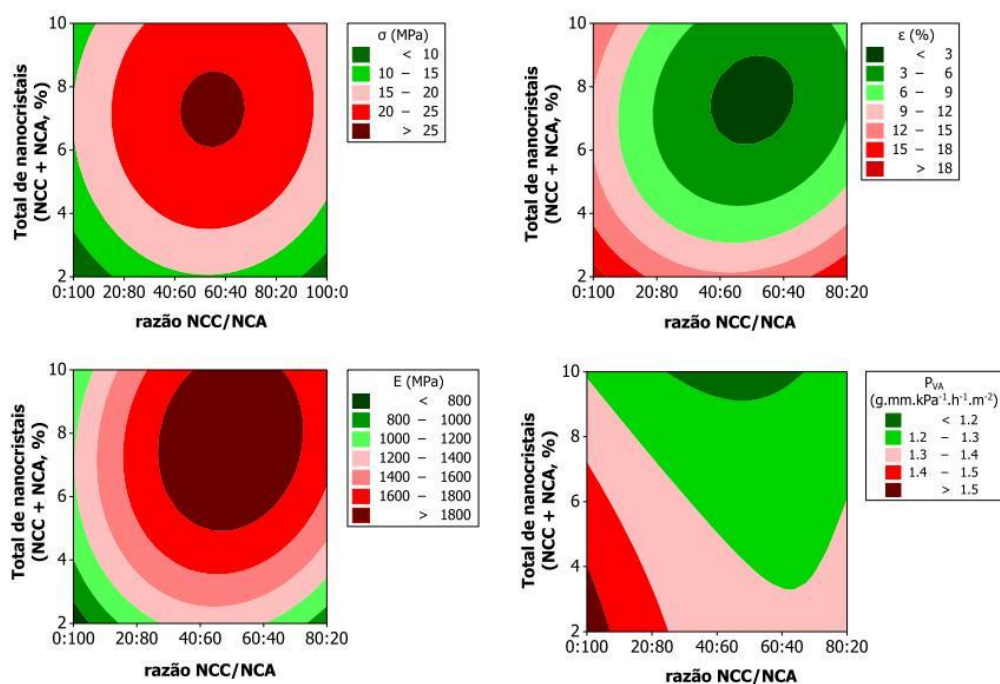


Figura 1. Propriedades mecânicas e permeabilidade a vapor de água de filmes com nanocristais.



A Figura 2 apresenta as propriedades dos filmes de amido quando adicionadas de diferentes proporções de gordura e fenólicos. Ambos prejudicaram as propriedades mecânicas dos filmes, mas diminuíram a  $P_{VA}$  (especialmente os fenólicos). Os fenólicos também conferiram propriedades de absorção de luz UV, o que pode contribuir para a proteção de alimentos sujeitos à oxidação. Por outro lado, eles também aumentaram a opacidade (como mostrado também na Figura 3), o que pode (a depender da aplicação) prejudicar a aceitação dos produtos acondicionados. Adicionalmente, a presença de fenólicos (mesmo em concentrações de cerca de 3%) conferiu aos filmes propriedades antioxidantes, apresentando mais de 90% de atividade de inibição do radical 2,2- difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).

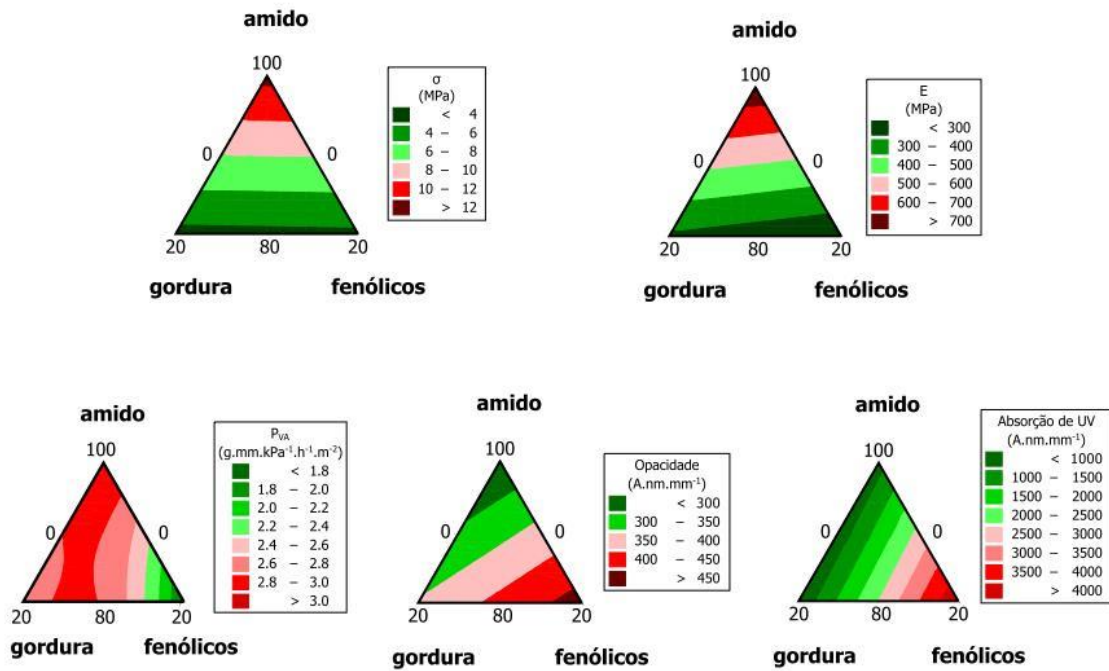


Figura 2. Curvas de contorno das propriedades dos filmes de amido adicionados de gordura e fenólicos.

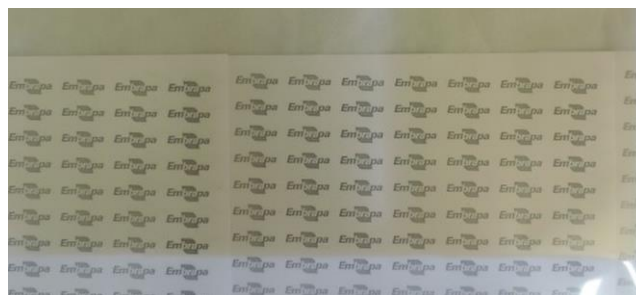


Figura 3. Foto de um filme com 25% de fenólicos (com base na massa de amido).

#### 4. Conclusões

Diversos componentes de alta aplicabilidade industrial podem ser isolados a partir de sementes (amêndoa ou tegumento) de manga, com bons rendimentos.

Nanocristais de celulose (NCC) mostraram-se mais efetivos para reforçar os filmes de amido quando comparados aos nanocristais de amido (NCA), o que provavelmente se deve parcialmente à sua morfologia fibrosa, em contraste com a morfologia quase-esférica dos NCA.

Os fenólicos isolados de amêndoa de manga são bastante efetivos para diminuir a permeabilidade dos filmes a vapor de água, além de conferir propriedades antioxidantes e de

absorção de luz UV. Por outro lado, eles conferem opacidade e cor amarronzada aos filmes, além de reduzirem suas propriedades mecânicas.

Sugere-se um trabalho posterior envolvendo a adição de fenólicos e nanocristais de celulose aos filmes de amido, de forma a combinar as vantagens conferidas por cada componente. Os filmes resultantes podem ser aplicados para acondicionamento de alimentos sujeitos a oxidação de lipídios, como castanhas e cereais matinais.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem o auxílio financeiro fornecido pela Embrapa (projeto 12.14.04.002.00.00), à CAPES (1586783 e 1376677) e à FUNCAP (BMD-0008-00640.01.11/15) pelas bolsas de mestrado, e ao CNPq pela bolsa de produtividade (302381/2016-3).

### **Referências**

- MELO, P. E. F. et al. Antioxidant films from mango kernel components. *Food Hydrocolloids*, v. 95, p. 487-495, 2019.
- OLIVEIRA, A. V. et al. Nanocomposite films from mango kernel or corn starch with starch nanocrystals. *Starch-Starke*, v. 70, p. 1800028, 2018.
- SILVA, A. P. M. et al. Mango kernel starch films as affected by starch nanocrystals and cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, v. 211, p. 209-216, 2019.
- SONWAI, S. et al. (2014). Blending of mango kernel fat and palm oil mid-fraction to obtain cocoa butter equivalent. *Journal of Food Science & Technology*, v. 51, p. 2357–2369, 2014.
- UNCTAD – United Nations Conference on Trade and Development. (2016). Mango – An INFOCOMM commodity profile. Disponível em:  
[https://unctad.org/en/PublicationsLibrary/INFOCOMM\\_cp07\\_Mango\\_en.pdf](https://unctad.org/en/PublicationsLibrary/INFOCOMM_cp07_Mango_en.pdf).

**EFFECT OF MONO AND BILAYER OF CARNAUBA WAX BASED NANO-EMULSION AND HPMC COATINGS ON POST-HARVEST QUALITY OF 'REDTAINUNG' PAPAYA**

Marcela Miranda<sup>1,\*</sup>, Anna Marín Gozalbo<sup>2</sup>, Xiuxiu Sun<sup>2</sup>, Anne Plotto<sup>2</sup>, Jinhe Bai<sup>2</sup>, Odilio B. G. Assis<sup>3</sup>, Marcos David Ferreira<sup>3</sup>, Elizabeth Baldwin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> São Paulo State University -School of Pharmaceutical Sciences, Rod. Araraquara-Jaú, Km 1, 14800-901, Araraquara, São Paulo

<sup>2</sup> United State Department of Agriculture- ARS Horticultural Research Laboratory, South Rock Road, 2001, 34982, Fort Pierce, Florida-US

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, São Paulo

\* Autor correspondente, e-mail: mmiranda.bio@gmail.com

**Abstract:** Coatings are alternatives for post-harvest product conservation since they can provide internal atmosphere changes, reduce moisture loss, and in some cases, act as an antimicrobial agent. This work aimed to evaluate an experimental carnauba wax nanoemulsion coating effects on papaya for postharvest fruit quality. Experimental testes were realized with 'Red Tainung' papaya at USDA-ARS-Florida-USA. Six treatments were applied : i) fruits were coated with single layer of HPMC (hydroxy methyl propyl cellulose) at 0.5% (w/v); ii) carnauba wax nanoemulsion coating (CWNE) at 18% (w/v); iii) a composed coating with CWNE and HPMC; iv) bilayer "A" composed by CWNE (first layer) and HPMC (second layer), v) bilayer "B" composed by HPMC+CWNE and vi) fruits coated with water. Weight loss, internal CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub>, peel color were evaluated after storage at 20 °C for 6 days. Uncoated fruits and treated with HPMC resulted in the highest weight loss. Fruits treated with bilayer "B" showed the lowest weight loss, however not different to other coatings containing CWNE. There were no differences for peel color. The highest levels of CO<sub>2</sub> were found for fruits treated with bilayer "B" along with the lowest O<sub>2</sub> among the other treatments. Control presented the lowest levels of CO<sub>2</sub> and the highest O<sub>2</sub>. The obtained results showed the potential to combine CWNE and HPMC applying monolayer of composed coating or bilayer "B" combination to improve papaya post-harvest quality.

**Keywords:** internal gas, fruit quality, nanotechnology, edible coatings.

**EFEITO DE MONO E BI-CAMADAS DE REVESTIMENTO A BASE DE NANOEMULSÃO DE CERA DE CARNAÚBA E HPMC NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MAMÕES 'REDTAINUNG'**

**Resumo:** Revestimentos são alternativas para a conservação de produtos pós-colheita, pois podem modificar a atmosfera dos frutos, reduzir a perda de umidade e atuar na redução de doenças pós-colheita. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de um revestimento experimental a base de nanoemulsão de cera de carnaúba na qualidade pós-colheita de mamões. Seis tratamentos foram aplicados em mamões 'Red Tainung' no USDA-ARS-Florida, EUA, sendo eles: i) frutos tratados com monocamada de HPMC a 0,5% (p/v); ii) monocamada de nanoemulsão de cera de carnaúba (CWNE) a 18% (p/v); iii) monocamada de revestimento preparado com CWNE e HPMC; iv) bicamada A composta por CWNE (primeira camada) e HPMC (segunda camada); v) bicamada B composta por HPMC seguido de CWNE e vi) frutos revestidos com água destilada. Perda de massa, níveis internos de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>, coloração da casca foram avaliadas após armazenamento a 20 ° C por 6 dias. Mamões sem revestimento e tratados com HPMC apresentaram maior perda de peso. Frutos tratados com bicamada B apresentaram menor perda de peso, porém não diferiram de outros revestimentos contendo CWNE. Não houve diferenças significativas para coloração da casca. Os maiores níveis de CO<sub>2</sub> foram encontrados nos tratados com bicamada B, juntamente com os menor níveis de O<sub>2</sub> interno entre os tratamentos. Frutos controle apresentaram os menores níveis de CO<sub>2</sub> e maior O<sub>2</sub>. Os resultados obtidos mostraram potencial para manutenção da qualidade pós-colheita de

mamões ao combinar nanoemulsão de cera de carnaúba e HPMC aplicando monocamada aos frutos ou combinado estes revestimentos na forma de bicamada.

**Palavras-chave:** composição gasosa interna, qualidade pós-colheita de frutas e hortaliças, nanotecnologia, revestimentos comestíveis.

## 1. Introduction

Papaya fruit is economic important to Brazil, exported to North American and European markets. Nevertheless, this fruit has a short shelf-life due to high weight loss, rapid ripening and accelerated senescence and susceptible to post-harvest diseases (SINGH, 2010).

Coatings are alternatives for post-harvest product conservation, since they can provide internal atmosphere changes, reduce moisture loss, and in some cases, act as an antimicrobial agent. Therefore, the development and application of protective coatings are being recognized as an alternative and efficient post-harvest technology for fruit preservation (ASSIS; BRITTO, 2014). Coatings act basically by creating a barrier between the fruit and the external environment (BALDWIN et al., 1994).

Lipidic materials are commonly used due their good water barrier properties. On the other hand, polysaccharides, such as hydroxy methyl propyl cellulose (HPMC), demonstrate good film-forming characteristics and have been frequently used as oxygen barriers (OSORIO et al., 2011). Carnauba wax itself (which microstructure allows opaque coating appearance) has been largely used to form conventional coatings and usually is mixed with other waxes, resins and solvents, changing its permeability and resulting in a shiny coating, which is visual attractive to fruits and vegetables, such as citrus for example (PUTTALINGAMMA, 2014; KUMAR; KAPUR, 2016; DE FREITAS et al., 2019).

Therefore, an experimental carnauba wax nanoemulsion was developed using carnauba wax type 1, palm oleic acid and ammonium hydroxide (without to add any other resin, wax or additive) which resulted in a nanostructured coating composed by nanodroplets of lipids that allows great shine. This experimental carnauba wax nanoemulsion have not been extensively explored for postharvest coatings alone or in combination with HPMC to maintain fruit quality and delay fruit ripen and decay.

The aim of this work was to evaluate the effects of an experimental carnauba wax nanoemulsion and HPMC coatings in single layer or in bilayers combination on papaya postharvest fruit quality.

## 2. Material and Method

### 2.1. Coatings preparations

#### 2.1.1. Carnauba wax nanoemulsion (CWN)

CWN coating, was prepared with a oil phase composed for carnauba wax type 1 (8 to 18% wt/v), and oleic acid (2.6 to 6% wt/v), from Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). The water phase was composed of ammonium hydroxide (1 to 3% wt/v), and dimethylpolysiloxane (0.02 to 0.1% v/v) purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co. and deionized water (71 to 89% wt/v). A nanoemulsion was accomplished by the inversion phase of W/O to O/W system, using the morpholine-free method proposal by Hagenmaier and Baker (1997) to obtain a microemulsion, with modifications for this work to obtain nanoemulsion. The carnauba wax nanoemulsion diameter size obtained was  $44.1 \pm 7.6$  nm, with a narrow polydispersion index (0.28) and zeta potential -43.8 mV (Miranda, 2015), measured by Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Inc., Westborough, MA, USA).

#### 2.1.2. Hydroxypropyl methyl cellulose coating (HPMC)

The amount of 0.5 g of HPMC (Sigma Aldrich- viscosity 40-60 cP) was dispersed in 100 mL of hot water at 80 °C at 200 rpm. Then, suspension was cooled to 22 °C remaining overnight under mechanical stirring. No plasticizer was required to this formulation.

### 2.1.3. *Carnauba wax nanoemulsion containing HPMC*

Under mechanical stirring, the amount of 0.5 g of HPMC was dispersed in 100 mL of carnauba wax nanoemulsion and remaining overnight under agitation.

## 2.2. *Papaya fruit coating*

'RedTainung' papaya (*Carica papaya L.*) from Guatemala were purchase at Nelson's Family in Homestead-FL at the first maturity stage, with 10% yellow peel color and transported to ARS Horticultural Research Laboratory- Fort Pierce-FL. The fruit was selected, washed and sanitized by immersion in 200 mg L<sup>-1</sup> peroxyacetic acid during 3 min, air-dried and coated. Sanitized papayas were coated spreading 2 mL of filmogenic solution on the fruit with latex gloves. The coated surface was air-dried at room temperature. The fruits were stored at 22 °C with 80% relative humidity (RH) for 6 days.

Coatings treatments were: i) fruits coated with single layer of HPMC at 0.5% (w/v); ii) carnauba wax nanoemulsion coating (CWNE) at 18% (w/v); iii) a composed coating with CWNE and HPMC; iv) bilayer "A" composed by CWNE (first layer) and HPMC (second layer), v) bilayer "B" composed by HPMC+CWNE and vi) fruits coated with deionized water.

For bilayer treatments, the second layer was applied only after the first layer exhibited to be completely dried. Experiments were conducted in a completely randomized factorial design. Each treatment was performed in triplicate. Determination of percentage of weight loss, internal carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and oxygen gas (O<sub>2</sub>), peel color (lightness, chroma and hue) were analyzed.

## 2.3 *Postharvest analyzes*

### 2.3.1. *Weight loss percentage*

Determined in a digital balance, model Marte AS 2000C. The same fruits per treatment were individually measured to calculate water loss.

### 2.3.2. *Internal carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and oxygen gas (O<sub>2</sub>)*

Three fruit samples from each treatment were analyzed by withdrawing an aliquot with 10 mL syringe from the central cavity of the fruit. The CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> concentration were determined by a same model GC fitted with a CTR column and a thermal conductivity detector. The gas flow rate for helium and air will be 80 and 350 mL·min<sup>-1</sup>, respectively. Temperatures of oven, injector, and detector will be 70, 250, and 250 °C, respectively

### 2.3.3. *Peel color*

Color was measured with a colorimeter Minolta® CR-400 Chroma Meter (Minolta Camera Co., Osaka, Japan), using the CIELAB system: L\* (lightness), a\* and b\* values (McGUIRE, 1992). The instrument was calibrated using a standard white reflector plate. Values were obtained from the same fruits per treatment and three determinations for each fruit.

## 3. Results and Discussion

Table 1 shows weight loss, lightness, chroma and hue angle of 'RedTainung' papaya fruit.

Uncoated fruits and treated with HPMC resulted in the highest weight loss. Fruits treated with bilayer B showed the lowest weight loss, however not different to other coatings containing CWNE. Lipid-based coatings, such as carnauba wax, are more hydrophobic and expected to act effectively as moisture (ASSIS et al., 2008; LIN; ZHAO, 2007). HPMC coating due to its hydrophilic characteristic allows water vapor loss.

Carnauba wax was efficient to reduce water loss typical to this hydrophobic coating (BALDWIN et. al, 1999) and showed to be an appropriated barrier to decrease water loss (KIM et al., 2014; JO et al., 2014).

There were no differences for lightness and chroma among treatments. However, control showed the lowest value for hue angle (closer to the orange color angle); followed by the other

treatments which showed intermediate values, excepted for fruits treated with a single layer of CWNE which showed the highest value (closer to the green color angle). Fruits treated with a single layer of CWNE coating remain the green color peel longer than the other treatments.

Table 1. Weight loss, lightness, chroma and hue angle of ‘RedTainung’ papaya fruit coated with different coatings and stored at 20 °C for 6 days.

Treatments	Weight loss	Lightness	Chroma	Hue angle
Control	10.9 ± 0.3 a	57.3 ± 1.2 a	45.2 ± 1.8 a	82.7 ± 5.0 b
SL HPMC* 0.5 %	10.7 ± 3.4 a	57.3 ± 4.0 a	48.2 ± 3.8 a	86.4 ± 5.1 ab
SL CWNE** 18%	3.2 ± 0.8 b	54.0 ± 2.0 a	43.2 ± 3.4 a	93.6 ± 1.3 a
SL CWNE with HPMC	3.0 ± 1.3 b	54.3 ± 2.1 a	44.3 ± 2.8 a	87.7 ± 6.5 ab
BL CWNE+HPMC	3.1 ± 0.4 b	53.3 ± 2.1 a	42.5 ± 2.3 a	89.2 ± 8.4 ab
BL HPMC+CWNE	2.8 ± 0.8 b	55.3 ± 2.1 a	45.9 ± 3.7 a	87.9 ± 4.2 ab

SL: single layer; BL: bilayer. Average ± Std. Deviation, \*hydroxypropyl methylcellulose coating; \*\*Carnauba wax nanoemulsion coating. Columns with different letters are significantly different by Duncan test ( $p < 0.05$ ) applied after ANOVA

Internal dioxide carbon (CO<sub>2</sub>) generally increased and oxygen gas (O<sub>2</sub>) decreased during storage. Control presented the expected internal gaseous composition, with the lowest levels of CO<sub>2</sub> and highest O<sub>2</sub>. The highest levels of CO<sub>2</sub> were found for fruits treated with bilayer “B” (BL-HPMC+CWNE) along with the lowest O<sub>2</sub> among the other treatments. CWNE coating was less permeable to CO<sub>2</sub>, since the fruits coated with this lipid presented higher level dioxide carbon than uncoated or fruits treated with only HPMC. However, bilayer coating constituted for the combination HPMC followed for CWNE showed less permeability to CO<sub>2</sub> than bilayer composed for the opposite combination (CWNE followed by HPMC), Figure 1.

Related to the O<sub>2</sub>, HPMC coating exhibited more permeable than CWNE. Fruits coated with carnauba wax nanoemulsion showed a lower level of internal oxygen gas after 6 days of storage at 20 °C.

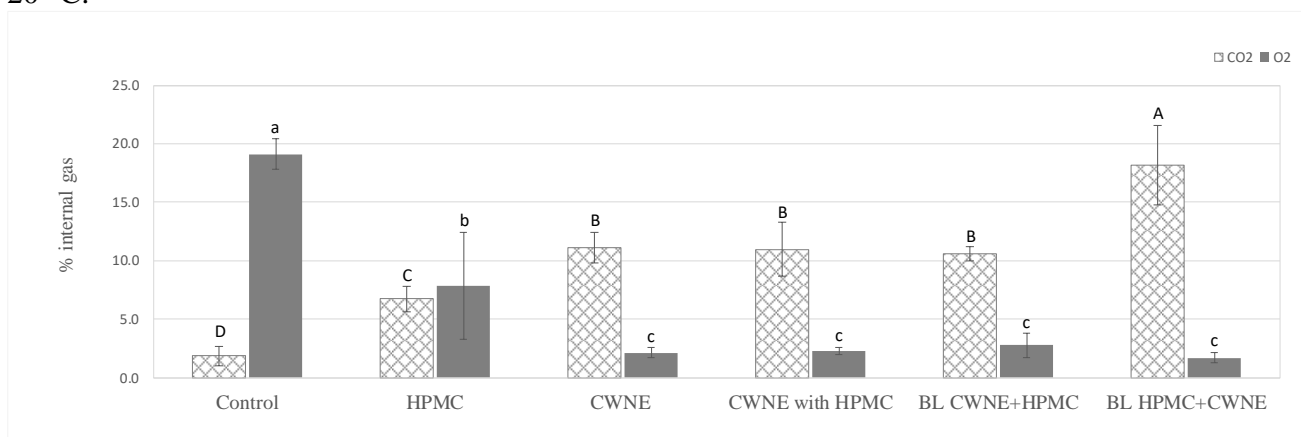


Figure 1. Internal gas (CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub>) of ‘RedTainung’ papaya fruit coated with different coatings and stored at 20 °C for 6 days. Columns with different Uppercase letters are significantly different by Duncan test ( $p < 0.05$ ) applied after ANOVA. The same rule apply to lowercase letters. BL: bilayer.; HPMC: hydroxypropyl methylcellulose coating; CWNE: carnauba wax nanoemulsion coating

#### 4. Conclusions

Carnauba wax nanoemulsion coating showed more suitable to reduce the internal level of oxygen gas and rise up dioxide carbon gas levels on papayas than HPMC. The use of this coating by itself or in bilayer combination CWNE and HPMC composed first for HPMC followed by CWNE showed potential to maintain papaya post-harvest quality. Sensory analyses need to be done to verify the levels of ethanol in each treatment which may add undesirable flavor to the fruits.

## Acknowledgment

This study was financed by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001 and São Paulo Research Foundation (FAPESP) grant #2018/10657-0 and #2016/23419-5

## References

- ASSIS et al. Aplicação de ceras em frutas e hortaliças. In: Colheita e Beneficiamento de Frutas e Hortaliças. Ferreira, M. D. (Org.) – São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, p.144, 2008.
- ASSIS, O. B. G., BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.
- BALDWIN, E. A., HAGENMAIER R., BAI J. Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. 2ed. Boca Raton: CRC Press, 1994. 392p.
- BALDWIN E.A., BURNS, J.K., KAZOKAS, W., BRECHT, J.K., HAGENMAIER, R.D., BENDERD, R.J., PESISE, E. Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*Mangifera indica L.*) ripening during storage. *Postharvest Biology and Technology*. v. 17, n. 3, p. 215-226, 1999.
- DE FREITAS, C. A. S., de SOUSA, P. H. M., SOARES, D. J., da SILVA, J. Y. G., RATHINARAJ BENJAMIN, S., & GUEDES, M. I. F. Carnauba wax uses in food-a review. *Food Chemistry*. v. 291, p.38-48, 2019.
- HAGENMAIER, R. D. & Baker, R. A. Edible Coatings from Morpholine-Free Wax Microemulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry –J. Agr. Food Chem.*v.45, n. 2, p. 349-352, 1997.
- JO, W-S.; SONG H-Y; SONG, N-B; LEE, J-H.; MIN, S. C. and SONG, K. B. Quality and microbial safety of ‘Fuji’ apples coated with carnauba-shellac wax containing lemongrass oil. *Food Sci. Technol.*, v.55, p.490- 497, 2014.
- KIM et al. Grape berry coatings of lemongrass oil-incorporating nanoemulsion. *LWT - Food Science and Technology*, v. 58, p 1-10, 2014.
- KUMAR, R.; KAPUR, S. Morpholine: A Glazing Agent for Fruits and Vegetables Coating/Waxing. *International Journal of Science Technology & Engineering*, v. 2, n.11, p. 694-697, 2016.
- LIN, D.; ZHAO, Y. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 6, n. 3, p. 60–75, 2007
- McGUIRE, R. G. Reporting of Objective Color Measurements. *Hortscience*, v. 27, n. 12, p.1254-1255, 1992. SINGH, P. Advances in control of postharvest diseases of papaya fruit- A review. *Agric. Rev.*,v.10, n.3, p.194-202, 2010.
- MIRANDA, M. Revestimento nanoestruturado de cera de carnaúba na manutenção da qualidade pós-colheita de tomates. 103 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, UFSCar, São Carlos, 2015.
- PUTTALINGAMMA, V. Edible coatings of carnauba wax - a novel method for preservation and extending longevity of fruits and vegetables - A review. *Internet Journal of Food Safety*, v. 16, p.1-5, 2014.

**COLAPSO INTERNO EM MANGAS: O PROBLEMA NA VISÃO DE ATACADISTAS**

Fernanda C. A. Oldoni<sup>1,\*</sup>, Milene C. Mitsuyuki<sup>2</sup>, Fabiane M. Camara<sup>3</sup>, Anita S. D. Gutierrez, Luiz A. Colnago<sup>2</sup>, Marcos D. Ferreira<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UNESP/FCFAR, Rodovia Araraquara Jaú, Km 01 - s/n - Campos Ville, 14800-903, Araraquara, SP

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452 - Centro, 13560-970, São Carlos, SP

<sup>3</sup> CEAGESP, Av. Dr. Gastão Vidigal, 1946 – Vila Leopoldina, 05316-900, São Paulo, SP

\* Autor correspondente, e-mail: fernandac.alencar2010@gmail.com

**Resumo:** O colapso interno apresenta-se como um problema em todas as regiões produtoras de manga e causa enormes prejuízos econômicos, principalmente por ser de difícil detecção externa, sendo muitas vezes constatado apenas no momento do consumo. Dessa forma, foi aplicado o questionário “Percepção de atacadistas sobre colapso interno em mangas comercializadas na CEAGESP”, com o objetivo de investigar a percepção dos atacadistas sobre perdas por colapso interno em frutos de mangas e possíveis fatores associados. Dos entrevistados, 93% afirmaram ser notificados sobre reclamações por colapso nas cargas comercializadas. Cargas não refrigeradas são comercializadas por 87% e refrigeradas por 70% dos respondentes e destas, respectivamente, 31% e 54% relataram já terem apresentado perdas em cargas, por colapso, superiores a 5%. Os entrevistados indicaram que fatores como tamanho do fruto (80%), teor de fibras (77%), frutos maduros (90%), adubação (77%) podem contribuir para o aparecimento do distúrbio em mangas. As variedades Palmer e Tommy Atkins foram citadas por 93 e 76% dos entrevistados, respectivamente, como mais incidentes. Diante dos relatos, há a necessidade de métodos não destrutivos para a identificação do colapso interno em mangas por se tratar de um problema de relevância e de difícil detecção.

**Palavras-chave:** *Mangifera indica* L., distúrbio fisiológico, qualidade do fruto, mercado.

**INTERNAL BREAKDOWN IN MANGOS: THE PROBLEM IN WHOLESALERS VIEW**

**Abstract:** Internal breakdown is a problem in all mango producing regions and causes huge economic losses mainly because it is difficult to detect externally and is often found only at the time of consumption. Thus, it is important to study the disorder and explore the points that most affect the commercialization of mangos subject to the anomaly. For this, the questionnaire “Perception of wholesalers about internal breakdown in mangos marketed at CEAGESP” was applied to investigate the perception of wholesalers regarding possible factors and losses associated with internal breakdown in mangos. Of the respondents, 93% were notified of complaints about collapse in cargo traded. 87% trade uncooled cargo and 70% uses refrigeration for transport; 31 and 54% confirmed the collapse on 5% or less of cargo traded, respectively. Factors such as fruit size (80%), fiber content (77%), ripe fruits (90%) and fertilization (77%) may contribute to the emergence of the disorder in mangoes. Palmer and Tommy Atkins varieties contribute 93 and 76%, respectively, in the incidence of the disorder. Given the reports, there is a need for non-destructive methods to identify internal collapse in mangos because it is an important issue of difficult detection.

**Keywords:** *Mangifera indica* L., physiological disorder, fruit quality, market.

**1. Introdução**

Um dos fatores que contribuem para as perdas em frutos de mangas é o distúrbio fisiológico conhecido como colapso interno, o qual se constitui em uma das principais desordens que causam



perdas na pós-colheita (LIMA, 2007). O termo “colapso” é utilizado para descrever um ou mais eventos fisiológicos que ocorrem em frutos de mangas e caracterizam-se pelo amadurecimento prematuro e desigual da polpa (FILGUEIRAS et al., 2000).

As causas do colapso são complexas e ainda não estão totalmente esclarecidas, porém, existem relatos de que o desequilíbrio nutricional (alto nível de N e baixo nível de Ca) (SANTOS FILHO e MATOS, 2000) pode agravar o distúrbio e influenciar na qualidade e na aparência dos frutos. Estudos relacionados a fatores genéticos divergem quanto à susceptibilidade ao distúrbio (ASSIS et al., 2004). Embora existam relatos das possíveis causas do aparecimento do colapso interno, ainda há dificuldade em se solucionar o problema, sendo, na maioria das vezes, observado somente no momento do consumo.

Pensando nisso, foi realizada uma pesquisa com o objetivo de investigar e explorar o distúrbio fisiológico denominado colapso interno em frutos de mangas, a partir da visão dos atacadistas do Entrepósito Terminal São Paulo – ETSP da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), maior central atacadista de frutas e hortaliças *in natura* da América do Sul, por meio da aplicação de questionário, fundamentado com base na literatura.

## 2. Materiais e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida na CEAGESP, localizada em São Paulo - SP em parceria com a Embrapa Instrumentação, São Carlos – SP. O estudo contou com a participação de 30 atacadistas da CEAGESP com experiência na produção e/ou comercialização de manga.

O critério para inclusão da entrevista no estudo foi determinado pelo reconhecimento do colapso, pelos entrevistados, em fotos com o problema apresentadas previamente.

O questionário foi composto de questões acerca das percepções quanto a: 1) Maturação e refrigeração das cargas comercializadas; 2) Reclamações de colapso e percentual de aparecimento do colapso nas cargas comercializadas; 3) Variedades mais sujeitas ao distúrbio; 4) Possíveis sinais indicativos de colapso e fatores causais associados;

As entrevistas foram realizadas no período de 03 a 07 de dezembro de 2018 em visitas feitas aos “boxes” de venda. Os atacadistas que concordaram em colaborar com o questionário assinaram um termo de consentimento livre esclarecido.

O termo explicava o objetivo da pesquisa e explicitava os direitos e deveres dos entrevistados e do pesquisador. Esclarecia que a participação no estudo era voluntária e gratuita, e que a recusa ou interrupção a qualquer momento não lhe causaria nenhum tipo de prejuízo ou penalização. Garantiu-se também que todas as informações seriam mantidas em sigilo, assegurando a privacidade e se desejasse, poderia ser informado sobre os resultados da pesquisa. Após os tópicos serem esclarecidos e aceitos, o atacadista foi instruído a responder o questionário.

Com a permissão dos mesmos, todas as entrevistas foram gravadas em smartphone e as perguntas direcionadas, reforçando que qualquer dúvida que surgisse, antes ou durante a aplicação, fosse reportada ao aplicador.

## 3. Resultados e Discussão

A amostra foi composta por 30 atacadistas de diferentes empresas, 67% possuíam mais de 10 anos de experiência, seguido de 7% entre 5 e 10 anos e 26% com 5 anos ou menos. Todos os entrevistados conheciam o problema de colapso, pois o identificaram espontaneamente ao serem mostradas imagens do distúrbio.

Na questão sobre a maturação dos frutos e forma de transporte observou-se que 97% dos entrevistados comercializam cargas verdes, 87% maduras, 70% delas são refrigeradas e 87% das cargas não são refrigeradas (Figura 1).

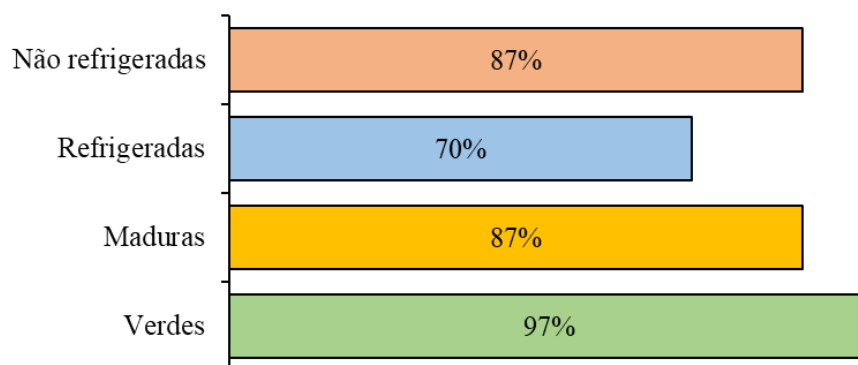


Figura 1. Percentual de atacadistas que comercializam cargas de frutos verdes, maduros, refrigerados e não refrigerados na CEAGESP.

Entre os entrevistados, 97% acreditam que há variedades mais susceptíveis. As variedades mais citadas pelos entrevistados que acreditam haver variedades mais sujeitas ao distúrbio foram: Palmer com 93%, Tommy Atkins com 76%, Haden com 31% e Bourbon com 14%. As demais variedades lembradas não foram indicadas ou tiveram percentuais abaixo de 10% (Figuras 2A e 2B). Do volume comercializado na CEAGESP, 43% corresponde à variedade Palmer e 46% à variedade Tommy Atkins, de acordo com dados da SIEM (2017). Nas entrevistas, os relatos de perdas por colapso nessas variedades correspondem a 30 e 21% respectivamente.

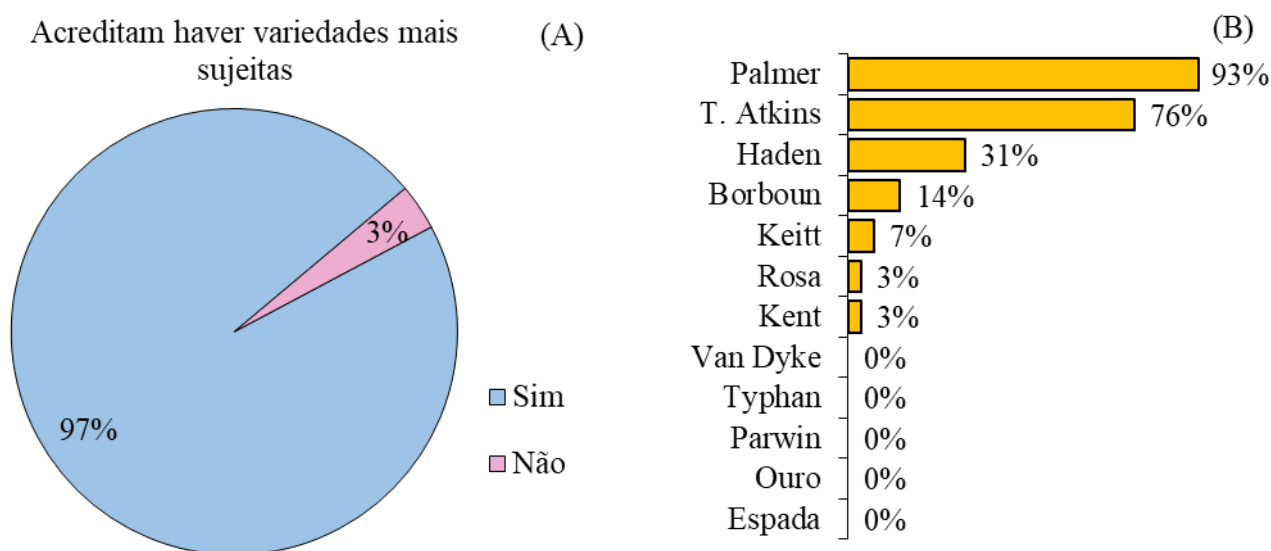


Figura 2. Percentual de respostas relacionadas à existência de variedades mais sujeitas ao colapso interno (A) e variedades mais susceptíveis ao colapso interno (B).

Com relação aos sinais de colapso, dois foram fortemente destacados e estão descritos a seguir. Tamanho do fruto, relatado por 80% dos entrevistados (Figura 3A). A visão dos mesmos está de acordo com fatores encontrados por Sharma (2006) e Ahlawat et al. (2013), os quais relacionam frutos de tamanho maior como um dos responsáveis ao aparecimento do colapso. Posteriormente, 76,7% dos entrevistados afirmaram que o teor de fibras é outro fator limitante ao aparecimento do colapso. De acordo com a visão dos atacadistas, variedades que apresentam menos fibras costumam apresentar mais colapso. Para Rozane et al. (2004), mangas fibrosas como Espada e Coquinho são pouco ou quase nada afetadas, enquanto que variedades melhoradas como Tommy Atkins é mais susceptível.

Finalmente, sobre a causa associada ao colapso, 90% dos entrevistados acreditam que frutos maduros estão mais associados com o aparecimento do colapso, seguido de adubação (76,7%), tipo

de solo (50%), região de produção/origem (46,7%), plantas mais velhas (30%), armazenamento refrigerado (26,7%), clima quente (23,3%), seguido de época de colheita e clima frio, ambos representando 20% das respostas (Figura 3B). A percepção dos atacadistas diante de alguns destes fatores corrobora com estudos na literatura, tendo em vista que o baixo teor de cálcio, atraso na colheita e exposição de luz solar na pré-colheita podem estar associados ao aparecimento do colapso (SHARMA, 2006; AHLAWAT et al., 2013).

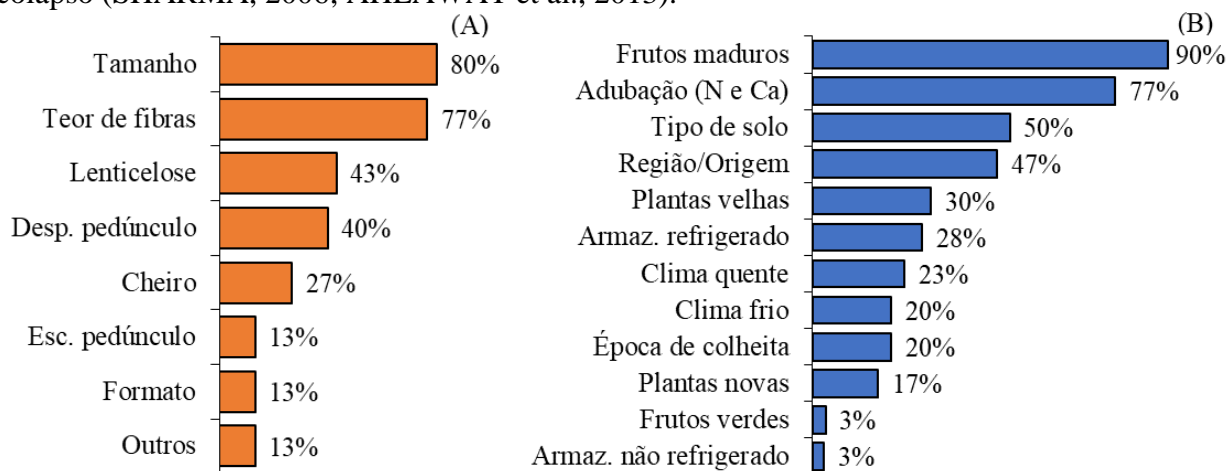


Figura 3. Percentual de fatores indicativos (A) e que influenciam o colapso interno em mangas (B).

As reclamações de compradores por colapso nas cargas também foram investigadas. Dos entrevistados, 93% afirmaram ser notificados sobre reclamações por colapso nas cargas comercializadas. Com isso, 36% mencionaram a ocorrência do colapso em 5% ou menos das cargas refrigeradas e 36% também afirmaram haver colapso em mais 10% das cargas refrigeradas. Nas cargas não refrigeradas, 54% dos entrevistados mencionaram a ocorrência de colapso em 5% ou menos, seguida de 21% em mais de 10% das cargas não refrigeradas (Figuras 4A e 4B). Na vivência dos atacadistas, dependendo do estágio de maturação, neste caso, lote maduro e condicionado ao armazenamento refrigerado, há influência no aparecimento do colapso.

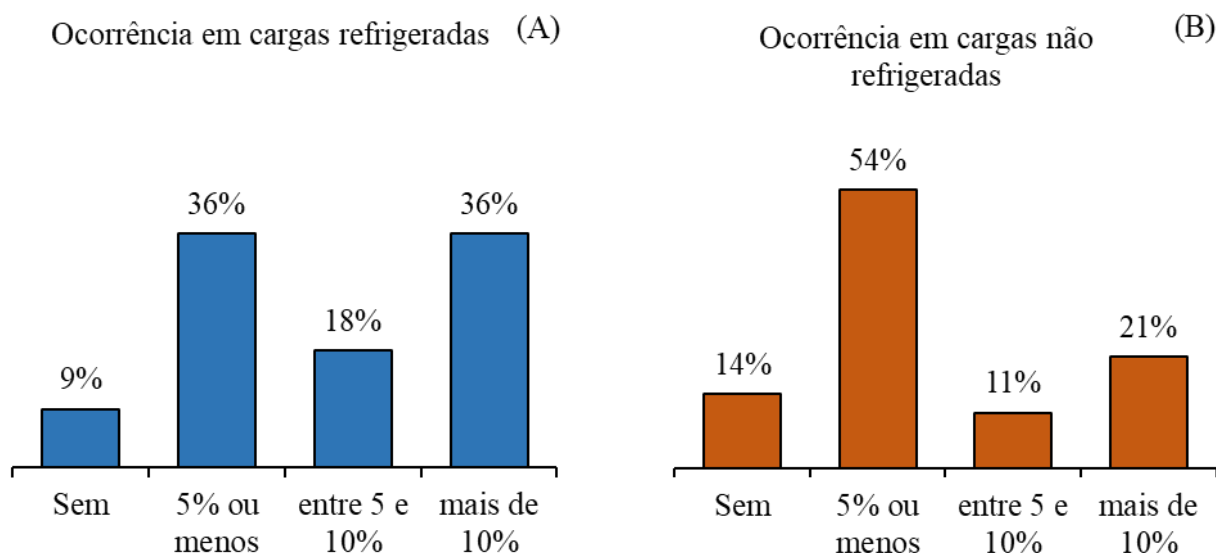


Figura 4. Percentual de atacadistas que confirmaram o aparecimento de colapso em cargas refrigeradas (A) e em cargas não refrigeradas (B).

A qualidade interna de frutos é medida muitas vezes por métodos instrumentais destrutivos, os quais são demorados e geram resíduos. Há a necessidade do desenvolvimento de equipamentos

que consigam identificar o colapso interno em mangas de maneira não destrutiva (RAJKUMAR et al., 2012), uma vez que o seu reconhecimento é feito na maioria das vezes no momento do consumo.

#### 4. Conclusões

Os entrevistados indicaram a presença de colapso, que é um problema relevante, e que afeta a comercialização em especial em mangas da variedade Palmer e Tommy Atkins. Atacadistas possuem a percepção de que o tamanho do fruto e teor de fibras podem estar associados ao distúrbio e também que fatores externos como adubação podem interferir no aparecimento desta anomalia.

A identificação do colapso interno é importante para a minimização das perdas na pós-colheita e aumento do retorno financeiro, uma vez que ele continua sendo um dos principais entraves na comercialização de mangas.

Por meio da visão dos atacadistas, reforça-se a necessidade de medidas para identificação prévia do colapso interno.

#### Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, juntamente com a Embrapa Instrumentação e CEAGESP.

#### Referências

- AHLAWAT, T. R.; PATEL, C. R.; RYMBAI, H.; PATEL, N. L. Physiological disorders in tropical and subtropical fruits. (In) Proceedings of the National Seminar on Tropical and Subtropical Fruits. Navsari, Gujarat, 229 - 252 p., 2013.
- ASSIS, J. S.; SILVA, D. J.; MORAES, P. L. D. Equilíbrio nutricional e distúrbios fisiológicos em manga ‘Tommy Atkins’. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 26, n. 2, p. 326-329, 2004.
- FILGUEIRAS, H. A. C.; MENEZES, J. B.; AMORIM, T. B. F.; ALVES, R. R.; CASTRO E. B. de. Características da fruta para exportação. In: FILGUEIRA, H. A. C. (Org.). *Manga: pós-colheita*. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. p. 14-21. (Frutas do Brasil, 2).
- RAJKUMAR, P.; WANG, N.; EIMASRY, G.; RAGHAVAN, G.; GARIEPY, Y. Studies on banana fruit quality and maturity stages using hyperspectral imaging. *Journal of Food Engineering*, Elsevier, v. 108, n. 1, p. 194–200, 2012.
- LIMA, M. A. C. de. *Manga: distúrbios fisiológicos*. Brasília: Agência de Informação EMBRAPA, p. 1, 2007. Disponível em: Acesso em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia22/AG01/arvore/AG01\\_34\\_24112005115221.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia22/AG01/arvore/AG01_34_24112005115221.html)>. 03 set. 2019.
- ROZANE, D.E.; DAREZZO, R.J.; AGUIAR, R.L; AGUILERA, G.H.A.; ZAMBOLIM, L. Manga Produção Integrada, Industrialização e Comercialização, Viçosa, Minas Gerais, 200 - 205p., 2004.
- SANTOS FILHO, H. P.; MATOS, A. P. Doenças e seus controles. In: MATOS, A. P. (Org.). Manga: produção: aspectos técnicos. Brasília: *Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia*, p. 52-53, 2000.
- SHARMA, R. R. Physiological disorders in tropical and subtropical fruits: causes and control. (In) Fruit Production-Problems and Solutions. International Book Distributing Co., Lucknow, UP, 301 - 325p., 2006.
- SISTEMAS DE INFORMAÇÕES E ESTATÍSTICA DE MERCADO DA COMPANHIA DE ENTREPÓSITOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO – SIEM. São Paulo: CEAGESP, Seção de Economia e Desenvolvimento, 2017.

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA EM FASE DE VAPOR DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SUAS  
COMBINAÇÕES CONTRA *Botrytis cinerea***J. G. Oliveira Filho<sup>1,\*</sup>, C. C. O. Nobre<sup>2</sup>, G. C. Silva<sup>2</sup>, H. M. C. Azeredo<sup>3,4</sup>, M. D. Ferreira<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Rodovia Araraquara - Jaú Km 01 - Campus Ville, 14800-903, Araraquara, São Paulo

<sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Rodovia Washington Luiz, s/n, 13565-905, São Carlos, São Paulo

<sup>3</sup> Embrapa Agroindústria Tropical - Rua Dra Sara Mesquita, 2270 - Planalto do Pici, 60511-750 Fortaleza, Ceará

<sup>4</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro, 1452 - Centro, 13560-970, São Carlos, São Paulo.

\* Autor correspondente, e-mail: josemar.gooliver@gmail.com.

**Resumo:** *Botrytis cinerea* é um fungo necrotrófico que afeta várias espécies de plantas, provocando a podridão cinzenta. A atividade antifúngica dos óleos essenciais (OEs) de *Cymbopogon martinii*, *Cinnamomum camphora*, *Mentha spicata* e *Mentha piperita* e suas misturas binárias M1 (*M. piperita* e *C. martinii*), M2 (*M. piperita* e *C. camphora*), M3 (*M. piperita* e *M. spicata*), M4 (*C. martinii* e *C. camphora*), M5 (*C. martinii* e *M. spicata*), M6 (*C. camphora* e *M. spicata*) foi avaliada contra o crescimento de *B. cinerea* pelo método de contato de vapor. A maior atividade antifúngica foi promovida pelos OE de *M. spicata* e *C. martinii* com inibição total do crescimento micelial no volume de 5 µL. Neste estudo nenhuma das misturas apresentou melhor desenvolvimento antifúngico, ou seja, a inibição total do crescimento do fungo em menor concentração quando comparada aos OEs individuais, indicando ausência de sinergia. Portanto, os OEs de *M. spicata* e *C. martinii* podem ser uma alternativa potencialmente eficiente e segura para uso como potenciais fumigantes para o controle de *B. cinerea* em produtos frescos armazenados que são sensíveis a tratamentos de imersão.

**Palavras-chave:** *Mentha piperita*; *Cymbopogon martinii*; *Cinnamomum camphora*; *Botrytis cinerea*

**VAPOR PHASE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AND THEIR  
COMBINATIONS AGAINST *Botrytis cinerea***

**Abstract:** *Botrytis cinerea* is a necrotrophic fungus that affects various plant species, causing gray rot. The antifungal activity of the *Cymbopogon martinii*, *Cinnamomum camphora*, *Mentha spicata* and *Mentha piperita* essential oils (EOs) and their binary mixtures M1 (*M. piperita* and *C. martinii*), M2 (*M. piperita* and *C. camphora*), M3 (*M. piperita* and *M. spicata*), M4 (*C. martinii* and *C. camphora*), M5 (*C. martinii* and *M. spicata*), M6 (*C. camphora* and *M. spicata*) were evaluated against *Botrytis cinerea* growth by the vapour contact method. The highest antifungal activity was promoted by *M. spicata* and *C. martinii* EOs with total inhibition of mycelial growth at a volum of 5 µL. In this study none of the mixtures showed better antifungal development, that is, the total inhibition of fungal growth in lower concentration when compared to individual EOs, indicating absence of synergy. Therefore, *M. spicata* and *C. martinii* OEs may be a potentially efficient and safe alternative for use as potential fumigants for the control of *B. cinerea* in stored fresh products that are sensitive to dipping treatments.

**Keywords:** *Mentha piperita*; *Cymbopogon martinii*; *Cinnamomum camphora*; *Botrytis cinerea*.

## 1. Introdução

O mofo cinza, causado pelo importante fungo fitopatogênico *Botrytis cinerea*, resulta em grandes perdas de rendimento em mais de 200 espécies de culturas em todo o mundo, especialmente em culturas econômicas como frutas e hortaliças. O controle efetivo de *B. cinerea* é difícil devido à seus amplos mecanismos de ataque e complexidade da interação hospedeiro-patógeno (WANG et al., 2019).

Tradicionalmente, o controle de fitopatógenos é alcançado pelo uso de fungicidas químicos sintéticos; entretanto, são necessárias alternativas para o controle desses patógenos devido a preocupações crescentes relacionadas ao meio ambiente, a saúde humana e ao uso generalizado e continuado dessas substâncias (PALOU et al., 2016).

Nesse contexto, os óleos essenciais (OEs), um tipo de óleo volátil extraído de plantas aromáticas, receberam atenção especial por serem geralmente reconhecidos como seguros para consumo humano pelo FDA (BURT, 2004). Os óleos essenciais (OEs) exercem fortes atividades antibacterianas, antivirais e antifúngicas, estimulando sua aplicação como antimicrobianos naturais contra patógenos pós-colheita (ASBAHANI et al., 2015).

Considerando que, em alguns casos, são necessárias aplicações em altas concentrações para que o OE tenha um efeito antimicrobiano, seu uso pode ter um impacto negativo nas propriedades sensoriais do alimento. Para evitar esse efeito adverso, vários OEs podem ser misturados para aumentar sua ação antimicrobiana e reduzir as concentrações individuais necessárias para aplicação (RENTSENKHAND et al., 2010). O possível efeito sinérgico produzido pela combinação de óleos essenciais de plantas foi relatado como uma estratégia eficiente para combater a deterioração por fungos durante a pós-colheita de frutas (AGUILAR-GONZÁLEZ, PALOU; LÓPEZ-MALO, 2015).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos OEs de *Cymbopogon martinii*, *Cinnamomum camphora*, *Mentha spicata* e *Mentha piperita* e suas misturas binárias contra o crescimento de *B. cinerea* pelo método de contato de vapor.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.2. Material

Os óleos essenciais (OEs) de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*), palmarosa (*Cymbopogon martinii*) e ho wood (*Cinnamomum camphora*) foram adquiridos da Laszlo Aromaterapia (Belo Horizonte, Brasil). O OE de hortelã verde (*Mentha spicata*) foi adquirido na Ferquima Ind. Ltda. (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil).

#### 2.2.2. Método por exposição aos voláteis

Atividade antifúngica *in vitro* de OEs *M. piperita*, *C. martinii*, *C. camphora* e *M. spicata*, individualmente ou em combinações M1 (*M. piperita* e *C. martinii*), M2 (*M. piperita* e *C. camphora*), M3 (*M. piperita* e *M. spicata*), M4 (*C. martinii* e *C. camphora*), M5 (*C. martinii* e *M. spicata*), M6 (*C. camphora* e *M. spicata*) foram testados para avaliar se a combinação de OEs podem apresentar maior atividade no controle de *B. cinerea* pela metodologia de exposição a voláteis.

A atividade antifúngica foi avaliada pelo método de exposição a voláteis, segundo Yun et al. (2013). A inibição do crescimento fúngico foi verificada para diferentes quantidades de OEs individuais e suas misturas (0; 5; 10; 20 e 30  $\mu$ L), que foram aplicadas em um círculo de papel filtro (20 mm<sup>2</sup>), fixado no centro da parte interna da tampa da placa de Petri (90×15 mm), que continha PDA solidificado. O inóculo de *B. cinerea* foi transferido para o centro da placa, a partir de um disco (5 mm de diâmetro) contendo micélio (inóculo). As placas foram mantidas em fotoperíodo de 12h a 25 ° C, com medições do crescimento micelial de cada colônia realizadas a cada 8h, em duas direções perpendiculares (diâmetro em cm). A inibição do crescimento fúngico nas diferentes concentrações de OEs individuais e misturas foi medida pela equação PI (%) = (Controle do Crescimento - Crescimento do Tratamento / Crescimento do Controle) × 100 (Plaza et al., 2004). A Concentração Inibitória Mínima (CIM), quando presente, foi considerada a menor concentração do

tratamento, dentre as concentrações avaliadas, capaz de inibir completamente o desenvolvimento de *B. cinerea*.

### 2.2.3. Análise estatística

O delineamento experimental foi o de fatorial randomizado, em esquema fatorial 10×6, com dez tratamentos (Controle; *M. piperita*; *M. spicata*; *C. martinii*, *C. camphora* e as misturas binárias) e seis concentrações. O desvio padrão das médias foi calculado e a diferença estatística das médias, no nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ), foi determinada pelo teste de Tukey.

## 3. Resultados e Discussão

O potencial antifúngico de OEs em fase de vapor, é um propriedade importante que os torna potenciais agentes fumigantes para a preservação de produtos frescos armazenados que são sensíveis a tratamentos de imersão (TZORTZAKIS, 2009), além de minimizar o resíduo de OEs nos alimentos após o tratamento. A Tabela 1 apresenta a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *B. cinerea* e a concentração inibitória mínima dos OEs na fase de vapor. Os OEs de *C. martinii* e *M. spicata* apresentaram a maior eficácia contra *B. cinerea*, com uma taxa de inibição de 100% no volume de 5  $\mu\text{L}$ . Os OEs de *C. camphora* e *M. piperita* apresentaram a menor atividade antifúngica na fase vapor quando comparado aos demais óleos individualmente, com capacidade total de inibição do crescimento micelial no volume de 10  $\mu\text{L}$ . Neste método, a combinação dos OEs também não resultou em aumento da atividade antifúngica e todas as misturas avaliadas apresentaram inibição total do crescimento micelial no volume de 10  $\mu\text{L}$ . O mesmo foi observado por Hossain et al. (2016), em um ensaio de fase de vapor usando OEs de tangerina e eucalipto combinados com OEs de tomilho e orégano, respectivamente, não produziram interação e não resultaram em uma melhora na atividade antifúngica contra *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Penicillium chrysogenum*.

A eficácia da fase de vapor de OEs contra patógenos de frutos pós-colheita tem sido evidenciada em estudos. As combinações EO de mostarda e cravo-da-índia na fase de vapor inibiram sinergicamente *B. cinerea* em morangos (AGUILAR-GONZÁLEZ, PALOU; LÓPEZ-MALO, 2015). A fase de vapor de *Lippia scaberrima* EO controlou *Colletotrichum gloesporioides* e *Botryosphaeria parva*, patógenos de deterioração pós-colheita em manga (REGNIER ET AL., 2008).

A aplicação dos OEs em combinação, explora a possibilidade de ocorrer efeito sinérgico entre os componentes dos OEs potencializando sua atividade, reduzindo os volumes necessárias de OE para inibir o crescimento total do fungo alvo. No entanto, neste estudo nenhuma das misturas apresentou melhor desenvolvimento antifúngico, ou seja, a inibição total do crescimento do fungo em menor concentração quando comparada aos OEs individuais, indicando ausência de sinergia. Comportamento semelhante foi relatado por Hossain et al. (2016), em um ensaio de fase de vapor usando EO de tangerina e eucalipto, que quando combinados com EO de tomilho e orégano, respectivamente, não produziram interação e não resultaram em uma melhora na atividade antifúngica.

A sinergia é influenciada pelos principais compostos dos óleos essenciais, uma vez que componentes menores podem ter um papel mais crítico nesse efeito, com a atividade dos componentes principais sendo modulada por outras moléculas menores (SAHAF; MOHARRAMIPOUR, 2008). A maior parte da atividade antimicrobiana dos OE parece ser derivada de terpenóides oxigenados, particularmente terpenos fenólicos, fenilpropanóides e álcoois. Outros constituintes, como hidrocarbonetos, que normalmente mostram atividades baixas, podem ser usados em combinações para aumentar suas bioatividades (BASSOLÉ; JULIANI, 2012).

**Tabela 1.** Percentual de inibição do crescimento micelial (PI) de *Botrytis cinerea* após exposição a substâncias voláteis em diferentes volumes ( $\mu\text{L}$ ) de óleos essenciais (valores médios  $\pm$  DP, n = 3).

Volume ( $\mu\text{L}$ )	Óleos PI <sup>1</sup> (%)									
	<i>M. piperita</i>	<i>C. martinii</i>	<i>C. camphora</i>	<i>M. spicata</i>	M1	M2	M3	M4	M5	M6
0	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
2,5	26,8 $\pm$ 8,9 <sup>b</sup>	51,2 $\pm$ 8,3 <sup>b</sup>	41,4 $\pm$ 14,4 <sup>b</sup>	57,9 $\pm$ 2,9 <sup>b</sup>	29,7 $\pm$ 5,5 <sup>b</sup>	36,04 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	24,6 $\pm$ 7,9 <sup>b</sup>	7,1 $\pm$ 3,2 <sup>b</sup>	17,9 $\pm$ 2,3 <sup>b</sup>	5,5 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>
5	79,0 $\pm$ 7,8 <sup>c</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	67,0 $\pm$ 4,7 <sup>c</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	46,5 $\pm$ 3,0 <sup>c</sup>	64,8 $\pm$ 2,0 <sup>c</sup>	82,6 $\pm$ 12,4 <sup>c</sup>	33,2 $\pm$ 1,4 <sup>c</sup>	59,6 $\pm$ 2,1 <sup>c</sup>	32,4 $\pm$ 5,4 <sup>c</sup>
10	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>
20	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>e</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>
30	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>e</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>	100,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>
MIC <sup>2</sup>	5 < MIC $\leq$ 10	5 < MIC $\leq$ 10	5 < MIC $\leq$ 10	5 < MIC $\leq$ 10	5 < MIC $\leq$ 10	5 < MIC $\leq$ 10	5 < MIC $\leq$ 10	5 < MIC $\leq$ 10	5 < MIC $\leq$ 10	5 < MIC $\leq$ 10

**Nota:** <sup>1</sup>PI=porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação ao tratamento controle. <sup>2</sup>MIC = Intervalo entre concentrações nas quais podem ser encontrados valores de 100% da inibição do crescimento micelial. M1 = mistura binária do OE de *M. piperita* e *C. martinii*, M2 = mistura binária do OE de *M. piperita* e *C. camphora*, M3 = mistura binária do OE de *C. martinii* e *C. camphora*, M4 = mistura binária do OE de *M. piperita* e *M. spicata*, M5 = mistura binária do OE de *C. martinii* e *M. spicata*, M6 = mistura binária do OE de *C. camphora* e *M. spicata*. DP = desvio padrão, n = número de repetições utilizadas no experimento. Letras distintas representam uma diferença significativa entre as concentrações de tratamentos pelo teste de Tukey (p < 0,05).



#### 4. Conclusões

Foram estudados os efeitos antifúngicos em fase de vapor de quatro óleos essenciais isolados e em combinação contra *B. cinerea*. Com base nos resultados, *C. martinii* e *M. spicata* exibiram a maior atividade antifúngica pelo ensaio de fase de vapor. As combinações dos óleos essenciais não mostraram sinergia significativa na inibição do crescimento de *B. cinerea*. Portanto, esses óleos podem ser uma alternativa potencialmente eficiente e segura para uso como agentes fumigantes no controle de *B. cinerea* na pós-colheita de frutos.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP (processo 2018/24612-9) e à CAPES pelo apoio financeiro. Os autores Azeredo e Ferreira agradecem ao CNPq por suas bolsas de produtividade em pesquisa (302381/2016-3 e 309043/2016-6, respectivamente).

#### Referências

- AGUILAR-GONZÁLEZ, A. Elena; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A.. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative food science & emerging technologies*, v. 32, p. 181-185, 2015.
- PALOU, L.; ALI, A.; FALLIK, E.; ROMANAZZI, G. GRAS, plant-and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. *Postharvest Biology and Technology*, v. 122, p. 41-52, 2016.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.
- ASBAHANI, A.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, E. A.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oils: from extraction to encapsulation. *International journal of pharmaceutics*, v. 483, n. 1, p. 220-243, 2015.
- RENTSENKHAND, T. Effect of essential oils and their combinations on food-spoilage microorganisms. 2010. Tese de Doutorado. Thesis]. Szeged: Univ. of Szeged.
- YUN, J.; FAN, X.; LI, X.. Inactivation of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* and quality maintenance of cherry tomatoes treated with gaseous essential oils. *Journal of food science*, v. 78, n. 3, p. M458-M464, 2013.
- HOSSAIN, F.; FOLLETT, P.; VU, K. D.; HARICH, M.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food. *Food microbiology*, v. 53, p. 24-30, 2016.
- REGNIER, T.; DU PLOOY, W.; COMBRINCK, S.; BOTHA, B. Fungitoxicity of *Lippia scaberrima* essential oil and selected terpenoid components on two mango postharvest spoilage pathogens. *Postharvest Biology and Technology*, v. 48, n. 2, p. 254-258, 2008.
- WANG, M.; DU, Y.; LIU, C.; YANG, X.; QIN, P.; QI, Z.; LI, X. Development of novel 2-substituted acylaminoethylsulfonamide derivatives as fungicides against *Botrytis cinerea*. *Bioorganic chemistry*, v. 87, p. 56-69, 2019.
- SAHAF, B. Z.; MOHARRAMIPOUR, S. Fumigant toxicity of *Carum copticum* and *Vitex pseudo-negundo* essential oils against eggs, larvae and adults of *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Pest Science*, v. 81, n. 4, p. 213-220, 2008.
- BASSOLÉ, I. H. N.; JULIANI, H. R.. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, v. 17, n. 4, p. 3989-4006, 2012.

**FILMES COMESTÍVEIS À BASE DE CELULOSE E GOMA DE CAJUEIRO COMO VEÍCULOS DE PROBIÓTICOS - ENSAIOS PRELIMINARES**

A. V. Oliveira<sup>1</sup>, A. A. S. Abreu<sup>2</sup>, C. Gonçalves<sup>3</sup>, S. Rodrigues<sup>2</sup>, H. M. C. Azeredo<sup>4,5,\*</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Ceará, Depto. Eng. Química, Campus Pici, 60455-760, Fortaleza, CE

<sup>2</sup> Universidade Federal do Ceará, Depto. Tecn. Alimentos, Campus Pici, 60440-900, Fortaleza, CE

<sup>3</sup> International Iberian Nanotechnology Laboratory, Av. Mestre José Veiga, 4715-330, Braga, Portugal

<sup>4</sup> Embrapa Agroindústria Tropical, R. Dra. Sara Mesquita, 2270, 60511-110, Fortaleza, CE

<sup>5</sup> Embrapa Instrumentação, R. 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente: henriette.azeredo@embrapa.br

**Resumo:** Celulose bacteriana e goma de cajueiro foram combinadas para formar filmes comestíveis contendo bactérias probióticas esporogênicas (*Bacillus coagulans*), com ou sem a presença de frutooligosacarídeos prebióticos. Os filmes produzidos apresentaram boa resistência mecânica e baixa permeabilidade a vapor de água, embora os probióticos e o prebiótico tenham prejudicado algumas dessas propriedades, o que se atribuiu a descontinuidades produzidas na estrutura dos filmes. Durante o processo de secagem dos filmes, houve redução de viabilidade celular de 2 ciclos log para o filme contendo apenas o probiótico, enquanto o filme contendo também o prebiótico apresentou redução bem menor, mostrando sua efetividade em proteger a cepa probiótica. Entretanto, os filmes não liberaram os probióticos durante o teste em trato gastrointestinal artificial, o que se atribuiu à não digestibilidade dos polissacarídeos.

**Palavras-chave:** biopolímeros, filmes bioativos, embalagem de alimentos.

**PROBIOTIC EDIBLE FILMS FROM CELLULOSE AND CASHEW TREE GUM**

**Abstract:** Bacterial cellulose and cashew tree gum were combined to form edible films containing spore-forming probiotic bacteria (*Bacillus coagulans*), with or without the presence of prebiotic fructooligosaccharides (FOS). The films presented good tensile strength and low water vapor permeability, although both the probiotic and the prebiotic have impaired those properties to some extent, which was ascribed to discontinuities within the film structures. During film drying, the cell viability was reduced in 2 log cycles for the film containing just the probiotic, whereas the one containing also the prebiotic presented a much lower reduction, demonstrating the FOS effectivity in protecting the probiotic strain. However, the films did not release the probiotics onto the gut during the in vitro test, which is probably due to the non-digestibility of the polysaccharides.

**Keywords:** biopolymers, bioactive films, food packaging.

**1. Introdução**

Filmes comestíveis são geralmente desenvolvidos com o objetivo de atuar como barreira em contato com o alimento, contribuindo para a função protetora da embalagem externa. No entanto, alguns filmes são desenvolvidos para incorporar funções adicionais, agindo, por exemplo, como veículos de componentes ativos (que favorecem a estabilidade do alimento) ou bioativos (que favorecem a saúde do consumidor). Seguindo esses conceitos, filmes contendo bactérias probióticas são potencialmente ativos e bioativos, já que podem trazer benefícios à saúde e também aumentar a vida de prateleira de alimentos, devido ao efeito de inibição competitiva exercido pelos probióticos contra bactérias deterioradoras ou mesmo patogênicas (Espitia et al., 2016).

Celulose bacteriana (CB) é um polímero sintetizado por algumas bactérias (especialmente as do gênero *Komagataeibacter*) na forma de feixes de nanofibrilas de celulose formando uma rede

tridimensional. Em contraste com celuloses vegetais, a CB é livre de hemicelulose e lignina, o que simplifica sua purificação e posterior processamento. A CB tem sido apresentada como uma boa matriz para imobilização de bactérias probióticas, protegendo-as contra o baixo pH do estômago (Fijałkowski et al., 2016). Por outro lado, a CB tem algumas desvantagens, como o custo (ainda alto, por deficiência de processos estabelecidos de produção em alta escala) e a alta viscosidade de suas dispersões, o que dificulta o processamento em alguns casos (como para produção de filmes).

A goma de cajueiro (GC), por sua vez, é um material abundante (especialmente no Nordeste brasileiro) e de baixíssima viscosidade. A GC é um heteropolissacarídeo exsudado de troncos de cajueiros, especialmente em condições de estresse.

O objetivo deste estudo é produzir filmes compósitos de CB e GC como veículos para uma bactéria probiótica formadora de esporos, *Bacillus coagulans*.

## 2. Materiais e Métodos

Membranas de CB foram produzidas por *Komagataeibacter xylinus* em meio de cultura padrão HS. As membranas foram lavadas sequencialmente em água em ebulição e solução de NaOH 2%, lavadas em água destilada até pH 7 e autoclavadas a 121°C por 1 h. As películas assim purificadas foram secas em estufa com circulação de ar a 50°C por 24 h e trituradas em liquidificador industrial (Vitamix Vita-Prep® 3) a 24000 rpm por 15 min. A BC foi então submetida a oxidação com o reagente 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoxil (TEMPO), segundo proposto por Saito et al. (2007), e em seguida lavada em água destilada até pH 7 e processada novamente no Vitamix (24000 rpm, em 3 passos de 10 min intercalados com intervalos de 10 min). A dispersão de CB nanofibrilada resultante (com cerca de 1% de sólidos) foi usada para as formulações dos filmes.

A goma de cajueiro (GC) foi obtida de cajueiros do Campo Experimental de Pacajus da Embrapa Agroindústria Tropical, e purificada segundo o método descrito por Torquato et al. (2004).

Uma cultura de *Bacillus coagulans* BC4 (GBI-30,6086) foi fornecida pela empresa italiana Sacco.

Uma dispersão de 10 g de CB, 10 g de GC e 6 g de glicerol foi homogeneizada em Ultra-Turrax (10.000 rpm, 10 min) e autoclavada (121°C, 15 min). Essa dispersão foi dividida em quatro partes, cada uma portanto contendo 5 g de polissacarídeos (2.5 g de cada), para a produção de 4 filmes: CB/GC (controle, sem probióticos ou prebióticos), CB/GC/Pro (contendo probiótico), CB/GC/FOS (contendo frutooligossacarídeos - FOS, reconhecidamente prebióticos, favorecendo o crescimento e sobrevivência dos probióticos) e CB/GC/Pro-FOS (contendo probiótico e FOS).

A dispersão CB/GC foi desgaseificada a vácuo, depositada sobre placas de petri de 14 cm de diâmetro e seca a 80°C por 140 min em estufa conectada a uma bomba de vácuo.

Para a dispersão CB/GC/FOS, 0,5 g de FOS foram adicionados, e a dispersão foi agitada a 500 rpm por 15 min. Em seguida, a dispersão foi desgaseificada e submetida às mesmas etapas posteriores que a CB/GC.

Para a dispersão CB/GC/Pro, foi usada uma quantidade de de *B. coagulans* suficiente para prover a dispersão com uma contagem de células viáveis de  $10^8$  UFC/g (em base seca). Essa biomassa foi incorporada à dispersão e agitada a 500 rpm por 15 min. As demais etapas foram as mesmas que para as demais dispersões, incluindo a coleta de três alíquotas de 1 mL (antes da secagem) e de 0,1 g (após a secagem) para contagens de células viáveis.

Para a dispersão CB/GC/Pro-FOS, foi feito o mesmo procedimento que para CB/GC/Pro, exceto que 0,5 g de FOS foram adicionados à dispersão juntamente com a biomassa bacteriana.

Depois de secos, os filmes foram caracterizados em termos de resistência à tração, alongação na ruptura, permeabilidade a vapor de água ( $P_{VA}$ ) e ângulo de contato. Além disso, os filmes contendo probióticos (CB/GC/Pro e CB/GC/Pro-FOS) foram submetidos a um ensaio de digestibilidade em sistema simulador do trato gastrointestinal, para avaliar a capacidade dos filmes em levar os probióticos ao intestino.

### 3. Resultados e Discussão

A presença do probiótico diminuiu a resistência do filme, mas aumentou sua alongação, enquanto os FOS prejudicaram ambas as propriedades (Tabela 1). Tanto as bactérias quanto os FOS (principalmente os últimos) aumentaram a permeabilidade dos filmes ao vapor de água, provavelmente por terem criado descontinuidades na estrutura. O ângulo de contato foi ligeiramente diminuído pela presença das bactérias, mas a redução foi drástica com a adição de FOS. Curiosamente, o filme contendo ambos (probióticos e FOS) não apresentou um ângulo de contato tão baixo quanto o do filme contendo apenas FOS, talvez por alguma interação entre as bactérias e os FOS ter resultado em redução da hidrofobicidade dos últimos.

Tabela 1. Propriedades físicas dos filmes.

Filme	$\sigma$ (MPa)	$\epsilon$ (%)	$P_{VA}$ (g.mm.kPa <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> .m <sup>-2</sup> )	Ângulo de contato (°)
CB/GC	27,70 a	6,09 b	0,966 c	113,62 a
CB/GC/Pro	15,64 b	16,26 a	1,132 b	109,45 b
CB/GC/FOS	11,32 c	2,00 c	1,253 a	44,07 c
CB/GC/Pro-FOS	14,40 bc	2,43 c	1,239 a	111,77 ab

A viabilidade do probiótico no filme CB/GC/Pro foi reduzida em 2 ciclos log, ao passo que, em presença de FOS, essa redução foi de menos de 1 ciclo log (Tabela 2), demonstrando a capacidade dos FOS de atuarem como prebióticos e favorecerem a sobrevivência da cepa.

Tabela 2. Contagens de células viáveis e redução durante a secagem dos filmes.

Filme	Contagem dispersão (log UFC/g, massa seca)	Contagem filmes (log UFC/g, massa seca)	Redução (log)
CB/GC/Pro	9,35 ± 0,12	7,36 ± 0,28	1,99 ± 0,16
CB/GC/Pro-FOS	9,54 ± 0,25	8,72 ± 0,31	0,83 ± 0,06

Um resultado negativo do trabalho, por outro lado, resultou do ensaio de digestibilidade *in vitro* nos filmes CB/GC/Pro e CB/GC/Pro-FOS (dados não apresentados). As contagens de probióticos nos fluidos gástrico e intestinal foram nulas, o que provavelmente significa que os filmes retiveram os probióticos a tal ponto que não os liberaram para colonização no intestino. Isso provavelmente se deve à não digestibilidade das matrizes, que imobilizaram o probiótico até mesmo onde se esperava que eles fossem liberados. A próxima etapa do trabalho é incluir uma co-matriz digerível aos filmes, para favorecer tal liberação.

### 4. Conclusões

A matriz de celulose bacteriana e goma de cajueiro produziu filmes com propriedades mecânicas e de barreira razoavelmente boas, mesmo que os probióticos e (principalmente) o agente prebiótico (frutooligosacarídeos – FOS) tenham prejudicado as propriedades físicas, por causarem descontinuidades nas estruturas. Os FOS reduziram bastante a perda de viabilidade dos probióticos durante a secagem, o que demonstra sua efetividade como prebiótico. No entanto, os probióticos não foram liberados no intestino durante o ensaio em trato gastrointestinal artificial, provavelmente devido à não digestibilidade dos polissacarídeos usados. Estudos se fazem necessários para melhorar a composição dos filmes de forma a promover a liberação das bactérias no intestino.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa (23.14.04.007.00.00) e à CAPES/FCT (projeto bilateral 99999.008530/2014-09) pelo auxílio financeiro, à FUNCAP e à CAPES pelas bolsas de doutorado regular e doutorado-sanduíche (AVO, processos BMD-0008-0026 3.01.08/17 e 8887.138002/2017-00, respectivamente) e ao CNPq pela bolsa de produtividade (HMCA, 302381/2016-3).

### Referências

- ESPITIA, P.J.P. et al. Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. *Food Research International*, v. 90, p. 42-52, 2016.
- FIJAŁKOWSKI, K. et al. Survival of probiotic lactic acid bacteria immobilized in different forms of bacterial cellulose in simulated gastric juices and bile salt solution. *LWT - Food Science and Technology*, v. 68, p. 322-328, 2016.
- SAITO, T. et al. Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules*, v. 8, p. 2485–2491, 2007.
- TORQUATO, D.S. et al. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 20, n. 5, p. 505-507, 2004.

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DA PIMENTA BIQUINHO  
CULTIVADA COM FERTILIZANTE MINERAL E BIOFERTILIZANTE**

J.M.Pereira<sup>1</sup>, C.M. Vicentini-Polette<sup>2,\*</sup>, P.P.M. Silva<sup>3</sup>, A.M. Biazotto<sup>3</sup>, M.H.F. Spoto<sup>3</sup>, F.C. Sala<sup>1</sup>,  
M.R. Verruma-Bernardi<sup>1</sup>, R. Stolf<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Centro de Ciências Agrárias, Rod. Anhanguera SP-330, km 174, CEP 13600-970, Araras, SP

<sup>2</sup> Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, R. Duque de Caxias, 225, CEP 13635-900, Pirassununga, SP,

<sup>3</sup> Universidade de São Paulo (USP), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Av. Pádua Dias - Agronomia, CEP 13418-900, Piracicaba, SP

\* Autor correspondente, e-mail: camvicentini@usp.br

**Resumo:** O uso de biofertilizantes proporciona a produção de alimentos saudáveis com baixo impacto ao ambiente, de forma eficiente. Este tipo de fertilização tem se mostrado bastante adequado no cultivo de diversas hortaliças, como a pimenta biquinho (*Capsicum chinense*). Este estudo teve como objetivo verificar as alterações na composição físico-química do fruto de pimenta Biquinho, adubados com fertilizante mineral e biofertilizante líquido, bem como nas suas características sensoriais. Na avaliação sensorial, aplicou-se o teste de ordenação para avaliar tamanho, cor, brilho, aroma, gosto, textura, e preferência. Os dados obtidos nas análises físico-químicas foram avaliados pela ANOVA e sensorial pelo teste de Friedman ( $p \leq 0,05$ ). Observou-se maior teor de cinzas do tratamento controle com relação aos tratamentos com fertilizante mineral e biofertilizante. Não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto aos teores de umidade, sólidos solúveis e ácido ascórbico. As pimentas produzidas com fertilizante mineral apresentaram maiores teores de acidez. Quanto à cor instrumental, apenas a cromaticidade apresentou diferença. Apesar de haver esta diferença instrumental, ela não foi percebida pelos avaliadores sensoriais. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para cor, brilho, aroma doce e pungente, gosto doce e sabor pungente, firmeza, preferência e intenção de compra, sugerindo a viabilidade de seu uso.

**Palavras-chave:** *Capsicum chinense*, biofertilizante, qualidade, agroecologia.

**PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY EVALUATION OF POUT PEPPER IN  
CONVENTIONAL CULTURE USING MINERAL FERTILIZER AND BIOFERTILIZER**

**Abstract:** The use of biofertilizers efficiently produces healthy food with low impact on the environment. This type of fertilization has been shown to be quite suitable in the cultivation of several vegetables, such as the Pout pepper (*Capsicum chinense*). This study aimed to verify the changes in the physicochemical composition of Pout pepper fruit fertilized both with mineral and liquid biofertilizer, as well as their sensory characteristics. In sensory evaluation, the ordination test was applied to evaluate the size, color, brightness, scent, taste, texture, and preference. The data obtained in the physicochemical analyzes were evaluated by ANOVA and in sensorial by Friedman test ( $p \leq 0.05$ ). The higher ash content of the control treatment was observed in relation to the treatments with mineral fertilizer and biofertilizer. There was no significant difference between treatments regarding moisture content, soluble solids, and ascorbic acid. Peppers produced with mineral fertilizer presented higher levels of acidity. As for the instrumental color, only the chromaticity presented difference. Although there is that instrumental difference, it was not noticed by the sensory evaluators. There was no significant difference between treatments for color, brightness, sweet and pungent scent, sweet taste and pungent taste, firmness, preference, and purchase intention, suggesting the feasibility of its use.

**Keywords:** *Capsicum chinense*, biofertilizer, quality, agroecology.

## 1. Introdução

Os biofertilizantes são definidos como produtos que contêm componentes ativos ou agentes biológicos capazes de atuar, direta ou indiretamente sobre as plantas cultivadas, melhorando o desempenho da produção, e que sejam isentos de substâncias proibidas pela regulamentação de orgânicos (BRASIL, 2012). São produtos oriundos da fermentação biológica e podem ser produzidos a partir de diversos produtos, como restos de vegetais, excrementos de animais, subprodutos da indústria do álcool, entre outros. Sua utilização proporciona a produção de alimentos saudáveis com baixo impacto ao ambiente, uma vez que um solo fértil, com abundância de nutrientes, possibilita o desenvolvimento de plantas que tendem a ser mais resistentes e de alta produtividade (SILVA, 2018).

As pimentas pertencem à família das Solanáceas e ao gênero *Capsicum*, e este gênero possui cerca de 30 espécies identificadas, sendo domesticadas as *C. annum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. pubescens*. Tais espécies são amplamente cultivadas para utilização nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (FERRAZ et al., 2016).

A variedade *C. chinense*, popularmente conhecida como pimenta biquinho, se destaca pela versatilidade na hora do preparo culinário, além do sabor adocicado.

Entre os principais componentes das pimentas, destacam-se os capsaicinóides, carotenoides, ácido ascórbico, vitamina E, vitaminas do complexo B, sais minerais, entre outras substâncias de valor nutritivo, como compostos fenólicos, carboidratos, lipídeos, proteínas e fibras, em diferentes níveis, de acordo com o genótipo e grau de maturação do fruto (DUTRA et al., 2010; ABUD et al., 2018). A pimenta Biquinho como, se destaca pela versatilidade na hora do preparo culinário, além do gosto adocicado.

Este estudo teve como objetivo verificar as alterações nas características físico-químicas do fruto de pimenta Biquinho, adubados com a fertilizante mineral e biofertilizante líquido, bem como suas características sensoriais.

## 2. Material e Métodos

O experimento de campo foi realizado entre fevereiro e outubro de 2018, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), localizado em Araras – SP. Segundo UFSCar (2018), Lat. 22° 18' S Long. 47° 23' W e Alt. 690 m.

Utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados com quatro repetições para cada um dos três tratamentos fertilizante mineral, em solo (N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O) e cobertura (N e K<sub>2</sub>O), em 5 parcelas; biofertilizante líquido, em cova e foliar (fermentado de esterco de curral fresco, açúcar mascavo, leite cru e água), semanal (até a primeira colheita) e quinzenal. O tratamento controle é definido como o plantio das pimentas nas mesmas condições dos demais tratamentos, porém sem aplicação de fertilizante.

Totalizaram-se 12 parcelas, de 15 plantas cada, com espaçamento de 0,72 x 0,72 m, ocupando uma área de 0,52 m<sup>2</sup>/planta, totalizando 7,7 m<sup>2</sup>/parcela. Para as avaliações foram utilizadas três plantas de cada parcela.

### 2.1. Avaliação físico-química dos frutos

Todas as análises foram realizadas em triplicata por tratamento. A avaliação de umidade foi realizada por secagem direta em estufa a 100-105°C. O teor de cinzas foi obtido, por meio da queima em mufla (IAL, 2008). A acidez titulável foi determinada de acordo com o método n° 942.15 da AOAC (2005). Os resultados foram expressos em mg de ácido cítrico g<sup>-1</sup> amostra. O pH foi determinado em potenciômetro da marca Marconi - MA-522 (Piracicaba, SP, Brasil) AOAC (2005).

A determinação do teor de sólidos solúveis (°Brix) foi realizada em refratômetro automático, a 20°C (ICUMSA, 2011). O teor de ácido ascórbico foi medido por titulação com o indicador DCFI

(2,6-diclorofenol indolfenol-sódio), e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico 100 g<sup>-1</sup> amostra (AOAC, 2005).

Quanto à cor instrumental, os valores Luminosidade (L\*), ângulo de cor *Hue* (tonalidade da cor em graus), e Cromaticidade (saturação da cor) foram medidos pelo colorímetro Chroma Meter CR-400 de 8 mm de diâmetro e iluminante padrão CIE C (Konica Minolta Sensing, Tokio, Japão). O aparelho foi calibrado em superfície branca utilizando o iluminante padrão CIE C (CIELAB).

## 2.2. Análise sensorial

As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial do CCA/UFSCar, Campus Araras. Os testes foram realizados em cabines individuais sob luz branca, em temperatura ambiente. As amostras foram codificadas e servidas simultaneamente (ABNT, 1994). Participaram do teste, voluntariamente, 61 avaliadores que declararam gostar de pimenta biquinho, 51% mulheres 49% homens, com idade entre 18 à 75 anos, sendo 79% menos de 30 anos

Foi aplicado o teste de ordenação de diferença e preferência (ABNT, 1994) para avaliar o tamanho (menor-maior), cor (claro-escuro), brilho (menos-mais), aroma doce (menos-mais), aroma pungente (menos-muito), gosto doce (menos-mais), sabor pungente (menos-muito), textura crocante (menos-mais), firmeza (menos-mais), preferência (menor-maior) e intenção de compra (menor-maior).

## 2.3. Análise estatística

Os dados obtidos nas análises físico-químicas foram avaliados por análise de variância (ANOVA,  $p \leq 0,05$ ), em triplicatas por bloco. Os resultados do teste de ordenação foram avaliados pelo teste de Friedman ( $p \leq 0,05$ ), utilizando a tabela de Christensen et al. (2006), com diferença significativa mínima igual à 22.

## 3. Resultados e Discussão

Observou-se maior teor de cinzas do tratamento controle com relação aos tratamentos com fertilizante mineral e biofertilizante (Tabela 1). Em um estudo similar Souza (2017) afirmou que o teor de cinzas elevado pode estar relacionado com as concentrações de nutrientes no solo, repercutindo, assim, no conteúdo de cinzas.

Tabela 1. Resultados das análises físico-químicas da pimenta Biquinho produzidas com diferentes fertilizantes.

Tratamento	AT	SS	pH	AA	UM	CZ	L*	Croma	<i>Hue</i>
Fertilizante mineral	0,0404 a	8,75 a	4,82 b	39,61 a	84,10 a	0,94 b	37,93 a	36,68 b	43,98 a
Biofertilizante	0,0378 b	8,51 a	4,94 a	30,46 a	84,74 a	1,06 b	37,88 a	36,27 b	45,66 a
Controle	0,0399 ab	8,62 a	4,91 a	37,62 a	84,23 a	1,32 a	37,81 a	37,98 a	46,75 a
DMS (5%)	0,0022	0,61	0,04	10,65	0,96	0,16	2,76	0,80	5,03
CV (%)	5,49	6,99	0,72	29,49	1,13	14,07	3,35	0,99	5,10

#Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível 5%. DMS=diferença mínima significativa; CV=coeficiente de variação. AT= acidez titulável; SS = sólidos solúveis; AA = ácido ascórbico; UM= umidade; CZ = cinzas.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto aos teores de umidade, sólidos solúveis e ácido ascórbico. WAHYUNI *et al.* (2001) alegaram que a concentração de ácido ascórbico é influenciada por diversos fatores, dentre eles o processo de amadurecimento das pimentas, que contribui para o decréscimo nos níveis de ácido ascórbico. Provavelmente os tratamentos não influenciaram significativamente no tempo de amadurecimento dos frutos, também devido à similaridade nos teores de sólidos solúveis.

As pimentas produzidas com fertilizante mineral apresentaram maiores teores de acidez, juntamente com a controle, e menor pH. Assim, na produção com biofertilizante foi possível obter



uma pimenta menos ácida, sendo isto uma característica importante para o estado de conservação e que reflete diretamente na qualidade final do produto. Embora este fator não tenha sido percebido pelos avaliadores sensoriais, é relevante para utilização da pimenta como matéria-prima para outros produtos.

Quanto à cor, apenas a cromaticidade apresentou diferença, onde os frutos controles obtiveram coloração mais intensa que os fertilizados. Apesar de haver esta diferença instrumental, ela não foi percebida pelos avaliadores sensoriais. Santos (2018), avaliando três linhagens de pimenta biquinho, encontrou as seguintes faixas de valores: 37,3 à 40,8 para luminosidade ( $L^*$ ), 45,6 à 55,5 para croma e 29,8 à 34,4 para cor *Hue*. De forma geral, os tratamentos avaliados neste estudo encontraram menor croma (saturação) e maior *Hue* (tonalidade) que o estudo citado, o que pode ser devido à diversos fatores, como linhagem, tratamento, metodologia ou maturação dos frutos. Porém, isso mostrou que há uma variabilidade nestes atributos, sem que a qualidade tecnológica (agronômica, físico-química e sensorial) seja necessariamente prejudicada.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto aos atributos: cor, brilho, aroma doce e pungente, gosto doce e sabor pungente, firmeza, preferência e intenção de compra (Tabela 2), sugerindo a viabilidade de seu uso.

Tabela 2. Resultado da somatória da análise sensorial das pimentas Biquinho produzidas com diferentes fertilizantes

Atributo	Fertilizante mineral	Biofertilizante	Controle
Tamanho	112 b	145 a	109 b
Cor	126 a	116 a	124 a
Brilho	127 a	128 a	111 a
Aroma doce	124 a	112 a	130 a
Aroma pungente	127 a	122 a	117 a
Gosto doce	118 a	116 a	132 a
Sabor pungente	113 a	133 a	120 a
Textura crocante	109 b	132 a	125 ab
Firmeza	115 a	134 a	117 a
Preferência	117 a	129 a	120 a
Intenção de compra	118 a	128 a	120 a

Valores seguidos de letras diferentes na vertical diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Friedman. Diferença mínima = 22.

Não houve diferença significativa quanto à gosto doce e aroma doce, o que é condizente com os teores de sólidos solúveis encontrados. Houve diferença significativa para crocante, sendo que os frutos produzidos com biofertilizante foram os maiores e, juntamente com o controle, os mais crocantes, atributos de grande importância mercadológica.

Juntamente com a linhagem, é importante que se escolha um tratamento que atenda, simultaneamente, às necessidades de produção, de mercado e ambientais. Assim, vemos no biofertilizante uma alternativa viável, econômica e com maior responsabilidade ambiental, sendo um produto promissor para o tratamento tanto de pimenta biquinho quanto para outras culturas.

#### 4. Conclusões

Os tratamentos com aplicação de fertilizante mineral e de biofertilizante geraram frutos consideravelmente similares. Dado que os frutos advindos da produção com biofertilizante apresentaram menor acidez, e foram sensorialmente percebidas como maiores e mais crocantes, embora não tenha existido diferença significativa entre os atributos cor, brilho, aroma doce e pungente, gosto doce, sabor pungente e firmeza, verificou-se no biofertilizante uma alternativa viável.

## Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## Referências

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 13170**: Teste de ordenação em análise sensorial. Rio de Janeiro. 1994. 7p.
- ABUD, H.F.; ARAÚJO, R.F.; PINTO, C.M.F.; ARAÚJO, E.G.; ARAÚJO, A.V.; SANTOS, J.A. Caracterização morfométrica dos frutos de pimentas malagueta e biquinho. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.8, n.2, p.29-39, 2018.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association Analytical Chemists**, 18.ed. Gaithersburg, AOAC. 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA, 2017, 240 p.
- CHRISTENSEN, Z.T.; OGDEN, L.V.; DUNN, M.L.; EGGETT, D.L. Multiple comparison procedures for analysis of ranked data. **Journal of Food Science**, v.71, n.2, p.132-143, 2006.
- DUTRA, F.L.A.; BRANCO I.G; MADRONA G.S.; HAMINIUK, C.W.I. Avaliação sensorial e influência do tratamento térmico no teor de ácido ascórbico de sorvete de pimenta. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.4, n. 2, p. 243-251, 2010.
- FERRAZ, R.M.; RAGASSI, C.F.; HEINRICH, A.G.; LIMA, M.F.; PEIXOTO, J.R.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. Caracterização morfoagronômica preliminar de acessos de pimentas cumari. **Revista Horticultura Brasileira**, v.34 n. 4, p. 498-506, 2016.
- IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: IAL, 2008, 1020p.
- ICUMSA. International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis. **Method book**. Berlin, Germany: Bartens, 2011. 128p.
- SANTOS, A.S. dos. **Características agronômicas, físico-químicas e sensoriais de linhagens de pimenta Biquinho cultivadas em sistema orgânico**. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural), 2018. 66p.
- SILVA, J.C.B. **Utilização de biofertilizante bovino líquido em cultivo de alface crespa (cv. Vanda): concentrações de doses de biofertilizante em cultivo de alface**. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural). Araras, Universidade Federal de São Carlos, 2018, 64p.
- SOUZA, P.V.L. **Conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante e minerais em hortaliças convencionais e orgânicas**. Dissertação (Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição). Universidade Federal do Piauí-PI. 2017, 93p.
- UFSCar. Universidade Federal de São Carlos. Estação Meteorológica Automática. **Dados meteorológicos**, 2018. Disponível em: <http://www.meteorologia-ara.ufscar.br/dados-meteorologicos/estacao-meteorologica-automatica-ema/>. Acesso em: mar. 2019.
- WAHYUNI, Y.; BALLESTER, A. R.; RAOUL, E. S.; BOVY, J. B. A. Metabolite diversity in pepper (*Capsicum*) fruits of thirty-two diverse accessions: variation in health-related compounds and implications for breeding. **Phytochemistry**, v.72, n.11/12, p.1358-1370, 2011.

## ANÁLISE ESTRUTURAL DA AMÊNDOA DE CUPUAÇU

J. D. C. Pessoa<sup>1,\*</sup>, J. M. L. de Souza<sup>2</sup>, V. B. Neto<sup>1</sup>, M. Arduin<sup>3</sup><sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, Rua 15 de novembro, 1452, 13.561-206, São Carlos, SP<sup>2</sup> Embrapa Acre, Rodovia BR-364, Km 14, Rio Branco - AC, 69900-970<sup>3</sup> UFSCar, Rod. Washington Luís, km 235 - SP-310 - São Carlos - CEP 13565-905

\* Autor correspondente, e-mail: jose.pessoa@embrapa.br

**Resumo:** O fruto do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) é largamente explorado para extração da polpa com a qual são feitos sucos e geléias. Mais recentemente foi desenvolvida tecnologia para utilização da amêndoa para obtenção de produto alimentício equivalente ao chocolate, que é originário de planta da mesmo gênero (*Theobroma cacao*). Apesar de demonstrado o conceito e aceitação do produto em pequena escala, o desenvolvimento de tecnologias para produção piloto demanda conhecimentos específicos sobre o objeto-alvo da tecnologia: a amêndoa. A escassez de informações adequadas motivou a realização deste trabalho que apresenta a macro e microestrutura física da semente, em especial do tegumento. O material biológico são amêndoas fermentadas e secas cujas dimensões foram determinadas também após reidratação. Para extração do tegumento a semente também foi reidratada. Após inspeção óptica a semente e uma sessão do tegumento foram analisados por microtomografia. As superfícies interna e externa do tegumento foram observadas por microscopia eletrônica de varredura. Além de deduzir a próxima etapa da pesquisa, este trabalho identificou relações relevantes sobre aderência entre as partes da semente e a umidade, além da porosidade do tegumento.

**Palavras-chave:** tegumento, testa, Theobroma, cupulate

**STRUCTURAL ANALYSIS OF CUPUAÇU SEED**

**Abstract:** The fruit of the cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) is widely exploited to extract the pulp with which juices and jams are made. More recently technology has been developed for using kernels to obtain food equivalent to chocolate, which comes from a plant of the same genus (*T. cacao*). Despite demonstrating the concept and acceptance of the product on a small scale, the development of technologies for pilot production requires specific knowledge about the technology's target object: the seed. The lack of adequate information motivated the accomplishment of this work that presents the macro and the microstructure of the seed, especially of the integument. The biological material is fermented and dried seeds whose dimensions were determined also after rehydration. For seed coat extraction the seed was also rehydrated. After optical inspection the seed and a seed coat session were analyzed by microtomography. The inner and outer surfaces of the integument were observed by scanning electron microscopy. In addition to deducing the next step of the research, this work identified relevant relationships on adherence between seed parts and moisture, as well as the porosity of the integument.

**Keywords:** integument, seed testing, Theobroma, cupulate

**1. Introdução**

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum) pertence ao mesmo gênero do cacauzeiro (*T. cacao*), cujo valor econômico reside principalmente na amêndoa, matéria prima do chocolate. Em 2011 foram produzidos 248 mil toneladas de cacau, sendo a Bahia responsável por 62,3% e o Pará por 25,7% (MENDES, 2012). Em 2014 a produção caiu para 230 mil ton, em 2015 para 140 mil e em 2016 subiu um pouco para 180 mil ton, sendo a Bahia responsável por 54,13% da produção e o Pará 40,14% (CONAB, 2017). O preço da amêndoa (R\$/Kg) também não foi

favorável ao produtor: entre dez16 e dez17 a amêndoa perdeu 15,6% do seu valor no mercado da Bahia. Contratos futuros de cacau são negociados principalmente pela Bolsa de Mercadorias de Londres (LIFFE), pela Bolsa de Mercadorias de Nova Iorque (NYMEX) e pela Bolsa de Mercadorias Intercontinental (ICE) (ADVFN, 2019). Justificada pelo aumento da produção da Costa do Marfim (maior produtor de cacau, responsável por 42% da produção mundial), os lotes para dezembro negociados na bolsa de Nova York caíram US\$17, negociados a US\$2.174/ton (VALOR, 2019). Na Bahia, a arroba (14,7Kg) está sendo negociada a R\$148. Para valores atualizados consultar <[www.mercadodocacau.com/cotações](http://www.mercadodocacau.com/cotações)>.

O mercado de cupuaçu é muito menor que o de cacau. De acordo com o último censo disponível no site do IBGE, em 2006 foram registrados 1836 estabelecimentos agropecuários produtores que produziram 1.888 ton de fruto, das quais 94% foram vendidas no valor de R\$2.559.000. <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/2233#resultado>>.

A compreensão da estrutura do mercado do cacau, sua dinâmica e preços praticados é importante para os empreendedores que cogitam explorar novas oportunidades mercadológicas do cupuaçu. Atualmente, o valor econômico do cupuaçu encontra-se na polpa, com a qual são fabricados sucos e geleias, mas assim como o cacau o cupuaçu possui semente da qual se pode produzir alimento registrado como Cupulate<sup>®</sup>, que possui 33% a mais de proteínas em relação ao cacau, é isento de cafeína e teobromina e apresenta sabor e textura similares ao chocolate (EMBRAPA, 2019). Seu preparo envolve a fermentação da semente, descarte do tegumento, testa ou película, para obtenção dos NIBs, que são fragmentos de cotilédone. Uma descrição detalhada e outras informações sobre aspectos agrônômicos do cupuaçu e do cupulate podem ser encontradas em Jorge (2011).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Material biológico

As sementes recém despulpadas foram obtidas junto a unidade de processamento de polpas de frutas da Cooperativa RECA - Reflorestamento Econômico Consorciado Adensado, localizada na BR-364, Km 1071, Distrito de Nova Califórnia – Porto Velho – RO. Estas foram fermentadas e secas nas dependências da própria cooperativa e foram encaminhadas à Embrapa Acre para serem despelculadas conforme Souza (2013) com adaptações, e submetidas a secagem em estufa com circulação forçada de ar a 40°C/24 horas. Em seguida, encaminhadas a Embrapa Instrumentação, via aérea, onde foram armazenadas em freezer a -20°C.

Cadastro de acesso ao patrimônio genético: nº A33B09D

### 2.2. Delineamento Experimental

Durante a fase exploratória as amêndoas foram submetidas a condições extremas de umidade: liofilização e imersão em água à temperatura ambiente; e temperatura: -20°C e aquecimento em micro-ondas (~35°C).

Após completa embebição por 12 horas, as amêndoas foram despelculadas manualmente.

Uma população de 30 amêndoas recolhidas aleatoriamente foram medidas nas suas três dimensões com paquímetro digital.

Uma amêndoa embebida e outra liofilizada foram submetidas ao microtomógrafo de Raios – X (SkyScan e o modelo é 1172). Em seguida um segmento (5mm x 10mm) do tegumento separado aleatoriamente foi submetido ao microtomógrafo.

Outra amêndoa foi embebida e seu tegumento separado para análise por microscopia eletrônica de varredura (JEOL modelo JSM6510).

## 3. Resultados e Discussão

Após fermentação e secagem a amêndoa é uma peça compacta e levemente flexível. Depois de imersa em água à temperatura ambiente suas partes tendem a reduzir a força de adesão, sendo possível separar manualmente o tegumento. Mesmo depois da hidratação o endocarpo (SANTOS,

2003) ou testa (VILALBA, 2003) tende a manter-se aderido embora mais fracamente. A amêndoa é formada pelo cotilédone e corpo embrionário, de onde se obtém os nibs ( Figura 1).



Figura 1. Amêndoa de cupuaçu: 1 e 2 - tegumento; 3 – mucilagem; 4 e 6 – endocarpo; 5 – nib; 7 - embrião.

Amêndoa seca e amêndoa totalmente embebida são dimensionalmente diferentes. Os valores médio e erro padrão da semente seca: comprimento 24,48mm±0,38mm; largura 19,88mm±0,39mm; altura 11,56mm±0,32mm. Os valores médios e erro padrão da semente totalmente hidratada: comprimento 27,15mm±0,43mm; largura 22,45mm±0,40mm; altura 12,62mm±0,36mm. Esses valores são importantes para o desenvolvimento tecnológico por que compõem o conjunto de especificações necessário para desenvolvimento de futuros despeliculadores (Figura 2).

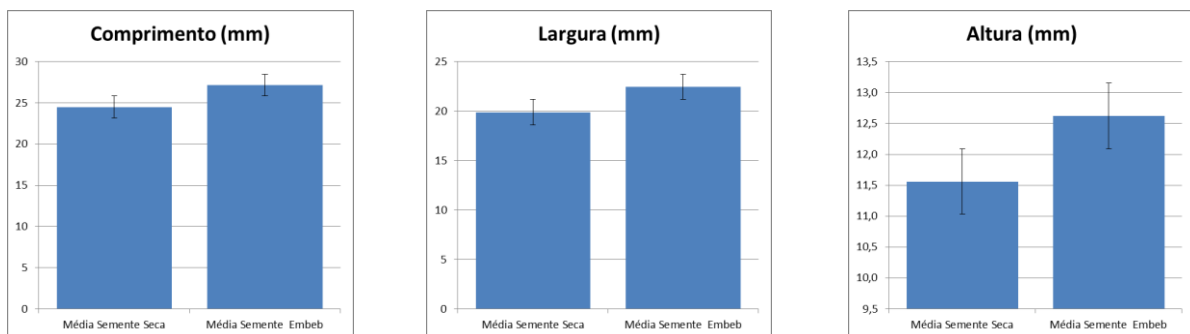


Figura 2. Média dos três valores dimensionais da semente seca e embebida, com os respectivos Erros-Padrão. As amêndoas utilizadas foram previamente fermentadas e secas.

A liofilização torna o tegumento friável, porém acentua sua aderência à amêndoa. A microtomografia mostra que parte do tegumento (sessão apresentada na Fig 3b) descolou da amêndoa por contração dos cotilédones. Apesar da microtomografia mostrar a justaposição do tegumento à amêndoa (Fig 3a), é possível removê-lo manualmente sem auxílio de ferramenta, demonstrando que aquelas partes perdem pelo menos parcialmente a aderência.

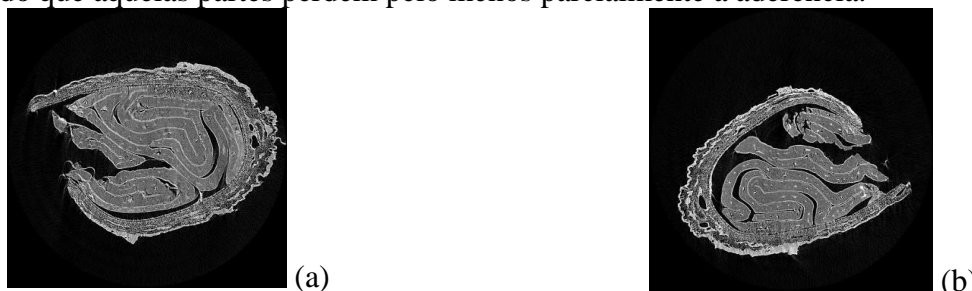


Figura 3. Corte transversal da amêndoa de cupuaçu vista por microtomografia de Raios-X: a) Embebida; b) Liofilizada. As amêndoa utilizadas foram previamente fermentadas e secas.

O corte transversal do tegumento (Figura 4) mostra que sua estrutura é constituída de quatro partes, aparentemente não fibrosas e porosas, com bolsões. A estrutura porosa é relevante por que armazena ar, que se expande ao ser aquecido.

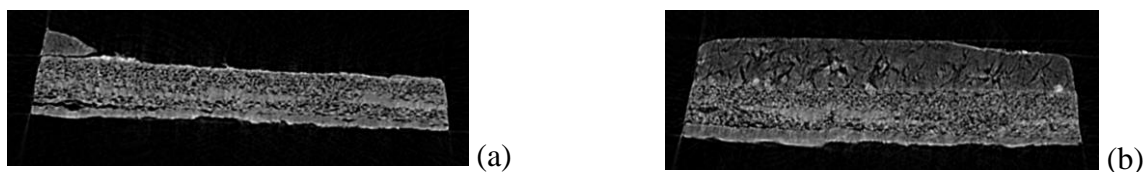


Figura 4. Detalhe do tegumento onde, de acordo com Santos (2003), são encontrados feixes vasculares e células esclerificadas em paliçada. Corte transversal visto por Microtomografia de Raios-X em duas posições. As sementes utilizadas foram previamente fermentadas e secas.

Após reidratação a face externa do tegumento mostrou-se escorregadia, possivelmente devido à presença de pectina oriunda de resíduos da polpa. Nas imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura é possível observar resíduos da fibra da polpa aderidos na face externa do tegumento.

#### 4. Conclusões

Conforme esperado, as dimensões da amêndoa variaram com a embebição. Sua magnitude, entretanto indicou que é possível distinguir a amêndoa nos dois estádios, o que importa para futuros desenvolvimentos tecnológicos.

Após reidratação a face externa do tegumento mostrou-se escorregadia, possivelmente devido à presença de pectina oriunda de resíduos da polpa. Apesar da microtomografia mostrar a justaposição do tegumento à amêndoa, é possível removê-lo manualmente sem auxílio de ferramenta, demonstrando que aquelas partes perdem pelo menos parcialmente a aderência.

A liofilização torna o tegumento friável, porém acentua sua aderência à amêndoa.

O corte transversal do tegumento mostra que sua estrutura é constituída de quatro partes, aparentemente não fibrosas e porosas, com bolsões.

A compreensão da microestrutura da amêndoa de cupuaçu requer outros estudos para preencher as lacunas que este trabalho mostrou existirem.

#### Agradecimentos

Este trabalho foi desenvolvido com o apoio do projeto Descascar (SEG 03.14.01.015.00.00) financiado pela Embrapa.

Aos agricultores familiares do Projeto RECA, pela parceria e doação das sementes recém despulpadas e apoio durante a fermentação e secagem das amêndoas.

#### Referências

ADVFN. Cacau. Disponível em <<https://br.advfn.com/commodities/cacau.html>>. Acesso em 22ago19.

CONAB. Cacau (amêndoa). Disponível em <[https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-cacau/item/download/15209\\_f1224c18e2ec9b8e1b1c9a5796fe55d3](https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-cacau/item/download/15209_f1224c18e2ec9b8e1b1c9a5796fe55d3)>. Acesso em 21ago2019. 2019.

EMBRAPA. Cupulate. Disponível em <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/50180/1/fd370001.pdf>>. Acesso em 22ago19.

JORGE, L.H. DE A. Cultivo e beneficiamento do cupuaçu. SENAI/AM – Escola SENAI “Antônio Simões”. Dossiê técnico. 2011

- MENDES, F.A.T. O estado do Pará e a produção brasileira de cacau. Disponível em <<http://www.ceplacpa.gov.br/site/?p=3009>> Acesso em 21ago19. 2012.
- SANTOS, S.F. DOS. Estrutura e histoquímica de sementes do gênero *Theobroma* L. (*Sterculiaceae*). Dissertação. Univ. Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. 2003.
- VALOR. Commodities agrícolas. Disponível em <<https://www.valor.com.br/agro/6399583/commodities-agricolas>>. Acesso em 22ago19.
- VILALBA, F. DE A. Fragmentação mecânica de amêndoas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) por meio de um beneficiador de cilindros. Dissertação. Univ. de Campinas, Faculdade de engenharia de alimentos. 2003.

**FILMES COMESTÍVEIS COM SUCO DE ACEROLA - REFORÇO E ESTABILIZAÇÃO DE COR**

H. L. Ribeiro<sup>1</sup>, M. S. M. Souza Filho<sup>2</sup>, E. S. Brito<sup>2</sup>, H. M. C. Azeredo<sup>2,3,\*</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Ceará, Depto. Eng. Química, Campus Pici, bloco 709, 60455-760, Fortaleza, CE

<sup>2</sup> Embrapa Agroindústria Tropical, R. Dra. Sara Mesquita, 2270, 60511-110, Fortaleza, CE

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, R. 15 de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: [henriette.azeredo@embrapa.br](mailto:henriette.azeredo@embrapa.br)

**Resumo:** Vários trabalhos têm envolvido o uso de polpas ou sucos de frutas em filmes comestíveis, que podem ser consumidos como snacks, substitutos de algas para sushis, sachês comestíveis etc. Acerola é uma fruta interessante para ser usada na composição de filmes, por sua alta popularidade e apelo à saúde (pelos altos teores de vitamina C). No entanto, as acerolas perdem sua cor vermelho-brilhante quando trituradas para produção de suco, devido à degradação de seus pigmentos (antocianinas), o que resulta em um produto de cor “desbotada”, pouco atraente aos consumidores. A montmorilonita (MMT) é um filossilicato, principal componente de bentonitas, listadas como GRAS pelo FDA, ou seja, consideradas seguras para uso em alimentos. Em filmes, MMT é usada principalmente como agente de reforço. Este trabalho mostra que, além do efeito de reforço, a MMT promove a recuperação e estabilização da cor do suco de acerola e consequentemente do filme resultante.

**Palavras-chave:** silicatos, pigmentos naturais, gelatina.

**EDIBLE FILMS WITH ACEROLA JUICE – REINFORCEMENT AND COLOR STABILIZATION**

**Abstract:** Several studies have addressed the use of fruit purees or juices in edible films, which may be consumed as snacks, sushi wraps, edible sachets, etc. Acerolas are interesting fruits to be used in edible films, thanks to their high popularity and health appeal (due to their high vitamin C contents). However, acerolas lose their typical bright red color when crushed to juice, due to anthocyanin degradation, resulting in a pale, unattractive color. Montmorillonite (MMT) is a phyllosilicate, the main component of benotnites, listed as GRAS by the FDA, safe for food applications. In films, MMT is mainly used as a reinforcing agent. This study reveals that, apart from the reinforcement effects, MMT still promotes color recovery and stabilization of acerola juice and thus of the resulting film.

**Keywords:** silicates, natural pigments, gelatin.

**1. Introdução**

Filmes comestíveis são geralmente estudados como materiais de embalagem primária de alimentos, complementando a função protetora de uma embalagem externa (secundária). Por outro lado, muitos estudos têm sido feitos com filmes comestíveis adicionados de componentes de apelo sensorial, tais como polpas de frutas e hortaliças, condimentos etc. Em tais casos, como os filmes têm apelo sensorial por si mesmos, eles podem ser usados para outras aplicações, como substitutos de algas para sushis, sachês comestíveis e mesmo snacks (Otoni et al., 2017).

A acerola é uma fruta tropical bastante popular e conhecida como fonte de ácido ascórbico (vitamina C). Por outro lado, as acerolas perdem cor rapidamente quando seus tecidos são desintegrados para produção de polpa ou suco, devido à degradação das antocianinas, induzida por luz, O<sub>2</sub> e especialmente mudanças de pH. As antocianinas existem em 4 formas – cátion flavilium



(vermelho, que predomina a  $\text{pH} < 2$ ), base quinonoidal (azul) e as formas incolores (pseudobase carbinol e chalcona). Algumas antocianinas (especialmente as aciladas) são relativamente estáveis, já que favorecem o predomínio do cátion flavilium. Entretanto, as antocianinas da acerola são especialmente degradáveis, o que produz notável perda de cor durante o processamento e estocagem. Essa alta degradabilidade parece se dever a uma condensação direta do ácido ascórbico ao C4 das antocianinas e/ou à presença de agliconas, que são menos estáveis (De Rosso e Mercadante, 2007; De Rosso et al., 2008).

Estudos anteriores demonstraram que a presença de argilas minerais como a montmorilonita (MMT) aumenta a estabilidade de antocianinas em solução (Kohno et al., 2009), o que foi atribuído a interações eletrostáticas e proteção estérica resultante da intercalação de antocianinas entre camadas de MMT. A MMT é o principal componente de bentonitas, que são listadas como GRAS pelo FDA (FDA, 2018).

Em estudo prévio do nosso grupo, já havia sido demonstrada a capacidade da MMT em devolver a um suco de acerola a cor vermelha e manter essa cor ao longo da estocagem (Ribeiro et al., 2018b). Neste trabalho, a equipe se propôs a avaliar a possibilidade de usar MMT como aditivo de dupla função em filmes comestíveis com suco de acerola: agente de reforço e alterador/estabilizador de cor.

## 2. Materiais e Métodos

Polpa comercial (congelada) de acerola foi descongelada, homogeneizada em Ultra-Turrax e centrifugada para separação do suco. A MMT (Proenol CN45, Flow Chemical, São Paulo) foi hidratada (para promover dispersão das lamelas) no suco de acerola (250 mL), sob agitação por 30 min seguida de sonicação em disruptor celular (DES500, Unique) a 20 kHz por 2 ciclos de 5 min a 500 W separados por intervalo de 5 min.

Gelatina bovina (25 g) foi então adicionada à dispersão, que foi submetida a agitação magnética (660 rpm, 30 min a 25°C, mais 30 min a 50 °C). Xarope de glicose (12,5 g) foi adicionado (como plastificante e adoçante), e a dispersão foi novamente agitada (660 rpm, 30 min), homogeneizada em Ultra-Turrax (10000 rpm, 15 min), sonicada (20 kHz, 500 W, 5 min), e desgaseificada com bomba de vácuo. A dispersão filmogênica foi então depositada sobre filmes de Mylar® fixados em placas de vidro e tiveram sua espessura regulada por uma barra de casting. Os filmes foram secos a 24°C por 24 h.

## 3. Resultados e Discussão

A adição de MMT melhorou as propriedades mecânicas (exceto a elongação) dos filmes e diminuiu a permeabilidade ao vapor de água (Figura 1), como esperado (Oliveira et al., 2016).

Os filmes sem MMT, além de terem ficado pálidos (amarelados) desde que foram produzidos, ainda sofreram alterações de cor ao longo da estocagem (Figura 2). Com o aumento do teor de MMT, os filmes se tornaram mais vermelhos (desde o início) e com cor mais estável ao longo da estocagem. A menor variação total de cor ao longo da estocagem ( $\Delta E^*$ ) foi apresentada pelo filme com 6% MMT (3,9% com base em gelatina), como apresentado no trabalho completo (Ribeiro et al., 2018a). Maiores teores de MMT resultaram em maior  $\Delta E^*$ , talvez devido a agregação de placas de MMT, prejudicando as interações MMT-antocianinas. Maiores detalhes sobre as alterações de cor (parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) podem ser encontrados no trabalho completo.

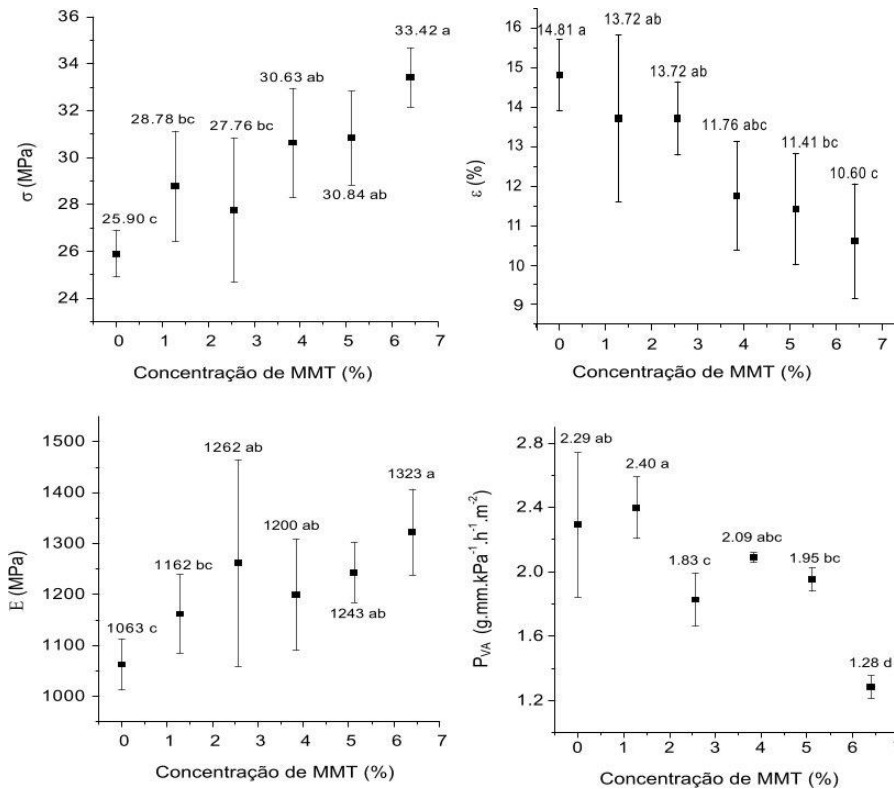


Figura 1. Propriedades mecânicas e P<sub>VA</sub> de filmes em função da adição de MMT.

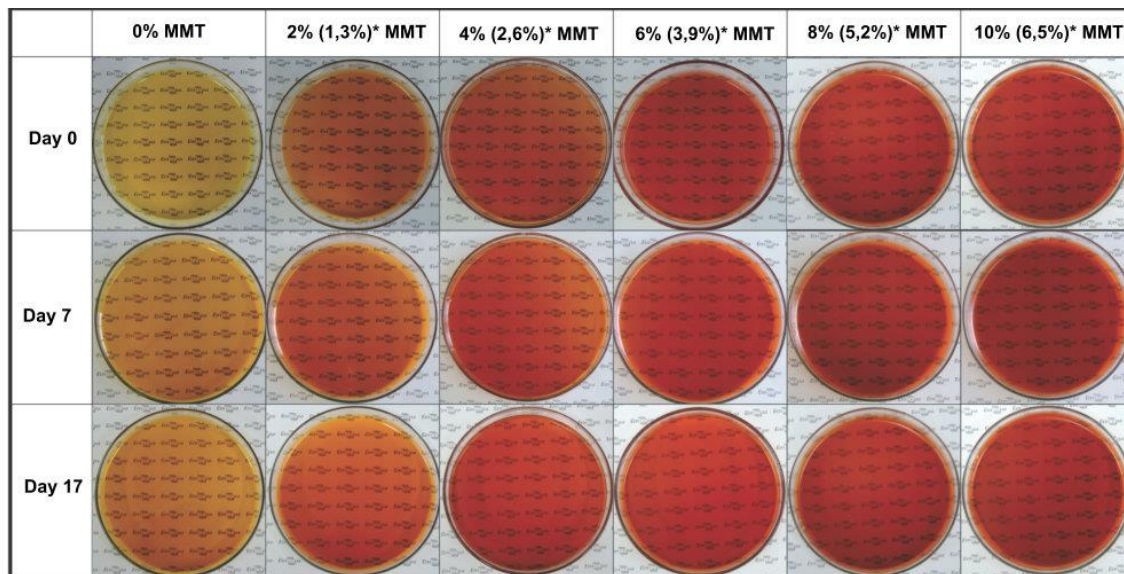


Figura 2. Variações de cor dos filmes em diferentes tempos de estocagem, em diferentes concentrações de MMT. \*Concentrações com base no teor de sólidos de acerola e, entre parênteses, com base na gelatina.

O difratograma de MMT pura (Figura 3) mostrou um pico referente ao plano (001) a  $2\theta = 7.14^\circ$ . Entretanto, os difratogramas dos filmes contendo MMT foram semelhantes aos do filme sem MMT, sem o pico (001), sugerindo que o nanocompósito estava provavelmente esfoliado, não intercalado (Mahmoudian et al., 2012). Assim, supõe-se que as antocianinas tenham sido imobilizadas na superfície das lamelas (e não intercaladas entre elas), como sugerido por Ogawa et al. (2017), ou que metais como  $Fe^{3+}$  e  $Al^{3+}$  tenham se complexado às antocianinas (Sigurdson et al., 2016).

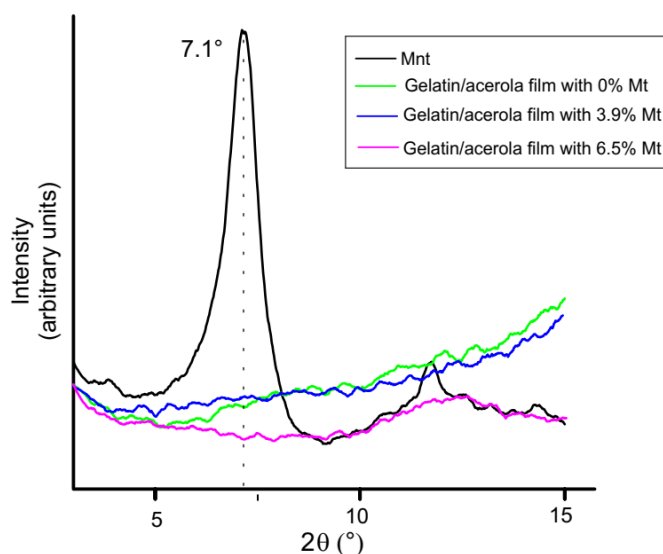


Figura 3. Difratomogramas de raios-X da MMT pura e dos filmes.

#### 4. Conclusões

A montmorilonita (MMT) não apenas atuou como reforço, melhorando as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes, mas também interagiu com as antocianinas, alterando a cor dos filmes (de amarelo pálido para vermelho brilhante, e mantendo a cor vermelha estável ao longo da estocagem (principalmente quando na concentração de 3,9% com base na gelatina (correspondendo a 6% com base na massa seca de acerola). Não se conhecem os mecanismos exatos para explicar a alteração e estabilização de cor, mas supõe-se que possam envolver imobilização das antocianinas à superfície da MMT ou complexação com metais. Os filmes podem ser usados para aplicações nas quais as características sensoriais da fruta sejam desejáveis, como *wraps* e fitas de frutas.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem o auxílio financeiro fornecido pela Embrapa (Rede AgroNano, 0114030010300) e CNPq (INCT-Frutos Tropicais, 465335/2014-4), à Flow Chemical Ltda. pelo fornecimento de MMT, à CAPES (1708268) pela bolsa de mestrado (HLR) e ao CNPq (302381/2016-3) pela bolsa de produtividade (HMCA).

#### Referências

- DE ROSSO, V.V.; MERCADANTE, A.Z. The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from acerola. *Food Chemistry*, v. 103, p. 935–943, 2007.
- DE ROSSO, V.V. et al. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 21, p. 291–299, 2008.
- FDA – Food and Drug Administration. CFR – Code of Federal Regulations Title 21. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1155>. Publicado em abril, 2018.
- KOHNO, Y. et al. Stabilization of natural anthocyanin by intercalation into montmorillonite. *Applied Clay Science*, v. 42, p. 519–523, 2009.
- MAHMOUDIAN, S. et al. Preparation of regenerated cellulose/montmorillonite nanocomposite films via ionic liquids. *Carbohydrate Polymers*, v. 88, p. 1251–1257, 2012.
- OGAWA, M. et al. Bio-geo hybrid pigment; clay-anthocyanin complex which changes color depending on the atmosphere. *Dyes and Pigments*, v. 139, p. 561–565, 2017.
- OLIVEIRA, T.I.S. et al. Pomegranate peel pectin films as affected by montmorillonite. *Food Chemistry*, v. 198, p. 107–112, 2016.

- OTONI, C.G. et al. Recent advances on edible films based on fruits and vegetables – a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 16, p. 1151-1169, 2017.
- RIBEIRO, H. L. et al. Montmorillonite as a reinforcement and color stabilizer of gelatin films containing acerola juice. *Applied Clay Science*, v. 165, p. 1-7, 2018a.
- RIBEIRO, H. L. et al. Stabilizing effect of montmorillonite on acerola juice anthocyanins. *Food Chemistry*, v. 245, p. 966-973, 2018b.
- SIGURDSON, G.T. et al. Evaluating the role of metal ions in the bathochromic and hyperchromic responses of cyanidin derivatives in acidic and alkaline pH. *Food Chemistry*, v. 208, p. 26–34, 2016.

**TOMATE CEREJA PROTEGIDO POR REVESTIMENTO DE PROLAMINAS DE MILHO**

Mirella Rissi<sup>1</sup>; Bruna Carolina Dorm<sup>2</sup>; Rubens Bernardes Filho<sup>3</sup>; Luiz Alberto Colnago<sup>3</sup>;  
Lucimara Aparecida Forato<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos – Departamento de Química, Km 235, 13565-905, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos – Departamento de Biologia, Km 235, 13565-905, São Carlos, SP

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação- Rua XV de Novembro, 1452, 13561-206, SP,

\* Autor correspondente, e-mail: lucimara.forato@embrapa.br

**Resumo:** O tomate cereja é rico em carotenóides e vitaminas, no entanto, é um fruto altamente perecível, com tempo de prateleira reduzido. Neste trabalho, tomates cereja foram protegidos com revestimentos à base de zeínas (prolaminas do milho), com adição de óleos vegetais (pimenta rosa ou óleo de alecrim) com o objetivo de aumentar seu tempo de prateleira. Os tomates revestidos com as quatro formulações contendo zeínas, óleo de pimenta rosa ou óleo de alecrim apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em 9 dias de armazenamento em condições ambientes, em comparação com amostras controle (sem revestimento) em relação à perda de massa. Os valores desta análise variaram de 7,0 a 7,5% para as amostras revestidas ao passo que as amostras controle apresentaram 9,0% de perda de massa. Foram observadas diferenças nos valores de  $L^*$ , que é relativa à luminosidade dos frutos, em que se observou decréscimo desse parâmetro somente para as amostras controle, que apresentou valor de 34,7 no último dia de experimento, contra variação de 35,9 a 39,1 para as amostras revestidas. O decréscimo no valor de  $L^*$  indica perda de brilho do fruto, que pode ser atribuída à redução da coloração verde e síntese de carotenóides.

**Palavras-chave:** tomate cereja, revestimentos comestíveis, zeínas, prolaminas.

***CHERRY TOMATO PROTECTED BY MAIZE PROLAMIN COATING***

**Abstract:** Cherry tomatoes are rich in carotenoids and vitamins, however they are a highly perishable fruit with reduced shelf life. In this work, cherry tomatoes were protected with zein-based coatings (maize prolamins), with the addition of vegetable oils (pink pepper or rosemary oil) in order to increase their shelf life. Tomatoes coated with the four formulations containing zeins, pink pepper oil or rosemary oil showed significant difference ( $p < 0.05$ ) at 9 days of storage under room conditions compared to control samples (uncoated) in relation to the mass loss. The values of this analysis ranged from 7.0 to 7.5% for coated samples whereas control samples showed 9.0% after 9 days of storage under room conditions. We observed differences in the values of  $L^*$ , which is relative to the luminosity of the fruits, which showed a decrease of this parameter only for the control samples, which presented a value of 34.7 on the last day of the experiment, against a variation from 35.9 to 39.1 for the coated samples. The decrease in  $L^*$  value indicates loss of brightness of the fruit, which can be attributed to the reduction of green coloration and carotenoid synthesis.

**Keywords:** cherry tomato, edible coatings, zein, prolamin.

**1. Introdução**

O tomate cereja é uma fonte de carotenóides e vitaminas, no entanto é um fruto muito perecível, com tempo de prateleira reduzido (Lenucci, 2006; Fagundes et. al 2015). Uma forma para aumentar o tempo de prateleira de frutos e alimentos perecíveis é o uso de revestimentos comestíveis baseados em componentes não tóxicos obtidos de fontes naturais. O milho contém

cerca de 10% de sua massa seca em proteínas, sendo que deste total 80% são zeínas. Estas últimas são as prolaminas do milho e são proteínas insolúveis em água devido ao seu alto conteúdo em resíduos de aminoácidos apolares. Esta característica lhes confere alta hidrofobicidade além de capacidade de formação filmogênica. Uma fonte rica em zeínas é o glúten de milho (GM) que é um resíduo da produção de amido a partir deste cereal. Como ele contém de 60 a 70% de zeínas ele é comumente empregado em ração animal (Wu *et al.*, 1997). Uma alternativa para se agregar valor a este resíduo é sua utilização para a extração de zeínas visando à obtenção filmes e revestimentos comestíveis baseados nestas proteínas

Neste trabalho, foram preparadas soluções precursoras de revestimentos à base de zeínas com adição de óleos vegetais para proteger tomates-cereja orgânicos.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Tomates cereja

O experimento foi conduzido com tomates cereja obtidos no comércio local do município de São Carlos - SP. Os tomates foram imersos por 30 minutos em um litro de água, contendo 7% de hipoclorito de sódio e posteriormente secos.

### 2.2. Extração das zeínas a partir do Glúten de milho

O glúten de milho foi fornecido pela empresa Ingredion (Mogi Guaçu –SP). A extração das zeínas a partir do GM foi feita de acordo com uma modificação da metodologia já dominada pelo grupo (Forato, 2003). Inicialmente os lipídeos do GM foram extraídos com hexano em sistema soxlet por 24 horas, seguida da agitação por 6 horas em solução de bissulfito de sódio 100 mol/L, filtrado e lavado com água destilada. Esta etapa foi acrescentada da metodologia já utilizada anteriormente pelo grupo, pois verificou-se que o GM fornecido continha grande quantidade de amido. A massa residual foi agitada em solução aquosa de etanol 70%. As zeínas foram solubilizadas nesta última solução, o solvente foi evaporado em rota-evaporador e as proteínas precipitadas e liofilizadas.

### 2.3. Formulação das soluções de zeínas/óleos vegetais e sua aplicação nos tomates

As formulações foram preparadas em etanol 70% e estão indicadas na Tabela 1. Os óleos de pimenta rosa e alecrim foram adquiridos do Mundo dos Óleos. O cadastro de acesso ao patrimônio genético, junto ao SISGEN, relativo à utilização para pesquisas contendo revestimentos comestíveis com óleo de pimenta rosa foi realizado, sendo seu número de cadastro **A0967B8**. Os tomates higienizados e secos foram imersos nas soluções precursoras dos revestimentos descritas na Tabela 1 por 5 segundos, colocados em suporte e então secos em temperatura ambiente, para cura do revestimento (26°C e 53% de umidade relativa). Foi usada a concentração “x” como valor de referência nas formulações.

Tabela 1. Formulações utilizadas para obtenção dos revestimentos a base kafirinas

Formulação	Zeínas	Óleo de alecrim	Óleo de pimenta rosa
Controle	-	-	-
R1	x	-	x
R2	2x	-	2x
R3	x	x	-
R4	2x	2x	-

### 2.4. Perda de massa

Para análise de perda de massa foram utilizados cinco tomates revestidos com cada formulação e tomates controle, sem revestimento.

## 2.5. Colorimetria

A análise por colorimetria foi realizada para os cinco tomates revestidos para cada formulação e os tomates controle, pelo equipamento Chroma Meter CR-400/410. Os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram utilizados para o cálculo do ângulo Hue e Chroma segundo as equações (1) e (2), respectivamente.

$$\text{Hue} = \tan^{-1}(b^*/a^*), \text{ quando } a^* > 0 \text{ e } b^* = 0 \quad (1)$$

$$\text{Hue} = 180 + \tan^{-1}(b^*/a^*), \text{ quando } a^* < 0 \quad (2)$$

## 3. Resultados e Discussões

### 3.1. Perda de massa

Na figura 1 está o gráfico de perda de massa dos tomates com e sem revestimento. Foram revestidos cinco frutos para cada formulação e cinco frutos analisados como controle, sem revestimento (SR).

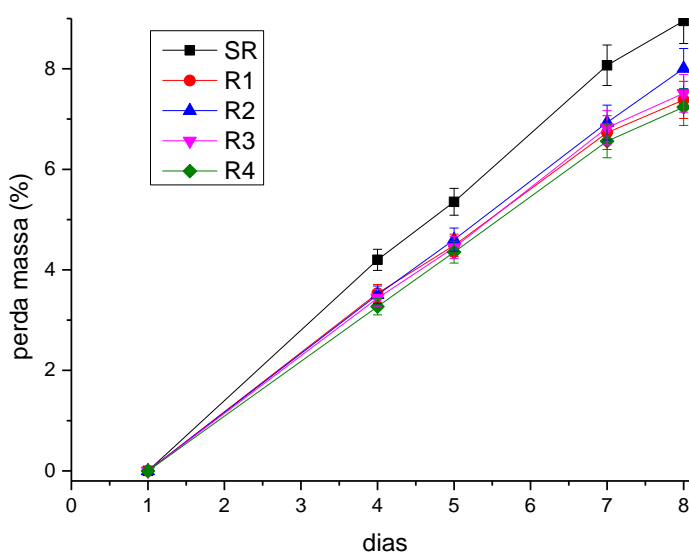


Figura 1. Gráfico de perda de massa de massa para a média de 5 frutos: tomates cereja sem revestimento (SR) – preto, revestidos com R1 (-●-), R2 (-▲-), R3 (-▼) e R4 (-◆-),  $p < 0,05$ .

Pela figura 1 pode-se observar que os tomates sem revestimentos apresentaram maior perda de massa ao final dos experimentos. O emprego dos revestimentos R1, R2, R3 e R4 resultou em perda de massa reduzida para os frutos.

Em relação às análises por colorimetria observou-se decréscimo de  $L^*$  somente para as amostras controle, que apresentou valor de 34,7 no último dia de experimento, contra variação de 35,9 a 39,1 para as amostras revestidas. No sistema CIELAB, o valor  $L^*$  varia do branco (+L) ao preto (-L) e indica a claridade. A redução do valor de  $L^*$  está relacionada à perda de brilho dos tomates devido à redução na coloração verde e aumento da síntese de carotenóides (Carvalho et. al 2005).

## 4. Conclusões

Embora todas as formulações utilizadas, para revestimento dos tomates, tenham reduzido a perda de massa durante o experimento, notamos que o aumento da concentração de zeínas na solução não acarretou diferença significativa na perda de massa. Outro aspecto relevante é que a solução com menor concentração de óleo de pimenta rosa e zeínas (R1) apresentou resultado próximo à solução R2 que possui maior concentração de zeínas e óleo de alecrim. Concluiu-se também, que os revestimentos a base de zeínas e óleos de pimenta rosa melhoraram o brilho dos frutos.

### Agradecimentos

EMBRAPA / Rede AgroNano, MCTI SisNano, CNPq (Processo PIBIC no. 145167/2016-0)

### Referências

- CARVALHO, W.; FONSECA, M.E.N.; SILVA, H.R.; BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L.B.  
Estimativa indireta de teores de licopeno em frutos de genótipos de tomateiro via análise colorimétrica. Horticultura Brasileira, Brasília, v.232 n.3, p.819-825, jul-set 2005.
- FAGUNDES, C., MORAES, K.; PÉREZ-GAGO M. B. PALOU, L., MONTEIRO, A. R.,  
Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes  
Postharvest Biology and Technology, v. 109, p. 73-81, 2015.
- FORATO, L. A.; BICUDO, T. C.; COLNAGO, L. A. Conformation of the alpha zeins in solid state by Fourier Transform IR. Biopolymers, v. 72, p. 421-426, 2003.
- LENUCCI, M. et al. Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. Journal Agriculture and Food Chemistry, v. 54, n. 7, p. 2606-2613, 2006.



**AValiação Físico-Química e Sensorial de Cultivares de Pimenta Biquinho Produzidos em Sistema Orgânico**

Santos, A.S. dos<sup>1,\*</sup>, Hubinger, S.Z.<sup>2</sup>, Ferreira, M.D.<sup>2</sup>, Oliveira, B.C. de<sup>3</sup>, Medeiros S.D. S. de<sup>4</sup>, Forti, V.A.<sup>1</sup>, Sala, F.C.<sup>1</sup>, Verruma-Bernardi, M.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, Rodovia Anhanguera, km 174, CEP: 13600-970, Araras/SP – Brasil

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, CEP:13560-970, São Carlos-SP-Brasil.

<sup>3</sup> Biotecnologia Universidade Federal de São Carlos

<sup>4</sup> Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Departamento de Informática e Estatística (INE), Centro Tecnológico (CTC), CEP: 88040-970, Florianópolis- SC-Brasil

\* Autor correspondente, e-mail: adriano\_santos198@outlook.com.br

**Resumo:** O estudo teve como objetivos avaliar os parâmetros físico-químicos e sensoriais de pimenta Biquinho (*Capsicum chinense*) cultivadas em sistema orgânico. Utilizou-se a cultivar BRS Moema, linhagens 37701 e 313605, ambas F7 do Banco de Germoplasma de Capsicum da UFSCar. Foram avaliados a cor instrumental, pH, sólidos solúveis, acidez titulável, compostos fenólicos e ácido ascórbico e análise sensorial de diferença e preferência. Com base nos resultados obtidos, verificou-se que a cultivar BRS Moema apresentou valores superiores para os teores de sólidos solúveis e ácido ascórbico, contudo as linhagens 37701 e 313605 obtiveram maior preferência sensorial.

**Palavras-chave:** pós-colheita; parâmetros de qualidade; preferência.

**PHYSICO-CHEMICAL AND SENSORY EVALUATION OF “BIQUINHO” PEPPER PRODUCED IN ORGANIC SYSTEM**

**Abstract:** The objective of this study was to evaluate the physicochemical and sensory parameters of Biquinho pepper (*Capsicum chinense*) grown in an organic system. The cultivar BRS Moema, strains 37701 and 313605, both F7 from the UFSCar Capsicum Germplasm Bank, were used. Evaluated instrumental color, pH, soluble solids, titratable acidity, phenolic compounds and ascorbic acid and sensory analysis of difference and preference. Based on the obtained results, it was verified that the cultivar BRS Moema presented higher values for soluble solids and ascorbic acid contents, however the strains 37701 and 313605 had higher sensory preference.

**Keywords:** postharvest; quality parameters; preference.

**1. Introdução**

As pimentas (*Capsicum spp.*) integram uma boa parte de hortaliças frescas do Brasil, e também do segmento de temperos, condimentos e conservas, a nível mundial (DUTRA et al., 2010). As principais espécies cultivadas são: *C. annum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. pubescens* (CARVALHO et al., 2003). Segundo Lutz; Freitas (2008), a pimenta *Capsicum chinense* (biquinho) contém 99 mg de ácido ascórbico 100 g<sup>-1</sup> de produto fresco, quantidade superior à necessidade diária de um indivíduo (60 mg dia<sup>-1</sup>). Reis et al. (2015), mostraram resultados da pimenta Biquinho: 0,27% para acidez total titulável, 7,2 °Brix, 1,17% de cinzas, 91,98% de umidade, 0,17 mg/mL de açúcares totais e 0,20% de lipídios. Simionato et al. (2015) avaliaram o perfil de compostos fenólicos em 19 diferentes cultivares de pimenta, sendo uma delas a biquinho e obteve 1,74 GAE/100g gramas de amostra.

De acordo com Arbos et al. (2010), hortaliças orgânicas coletadas no ponto de maturidade comercial apresentaram superioridade no teor de compostos fenólicos em relação obtidos das

mesmas hortaliças em cultivo convencional. Pelo motivo dos materiais cultivados muitas vezes terem sido desenvolvidos em um local com características diferentes daquelas de cultivo, a avaliação quanto a sua adaptabilidade a condições edafoclimáticas é de extrema importância, pois, a interação das linhagens com o ambiente pode afetar tanto as características produtivas quanto sensoriais (WHITAKER et al., 2011). Segundo Loures et al. (2010), afirmaram que a qualidade sensorial de um produto proporciona informações sobre a aparência, aroma, sabor e textura e, o conhecimento destes atributos pode ser um diferencial durante o desenvolvimento e a melhoria de produtos e processos.

A análise do desempenho destes materiais em sistemas orgânicos é de extrema importância por possibilitar o desenvolvimento de um produto voltado ao interesse deste nicho de mercado. O estudo teve como objetivos avaliar os parâmetros físico-químicos e sensoriais de cultivares de pimenta Biquinho (*Capsicum chinense*) cultivadas em sistema orgânico.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Descrição do experimento de campo

Foi utilizada a cultivar Biquinho BRS Moema e outras duas linhagens 37701 e 313605, ambas F7, do programa de melhoramento genético de pimenta doce, obtidas a partir do cruzamento da cultivar Biquinho BRS Moema com a linhagem CCA 4572, do Banco de Germoplasma de *Capsicum* da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). As mudas foram plantadas em canteiros considerando o delineamento experimental em blocos ao acaso, com seis blocos de 10m de comprimento e 1,2m de largura, cada um com três tratamentos. Em cada bloco, as parcelas experimentais foram constituídas por 10 plantas, sendo três centrais referentes à parcela útil e outras sete como bordadura.

### 2.2. Análises físico-químicas

Para as análises físico-químicas as pimentas foram trituradas, separadamente, com o uso de processador de alimentos. O pH foi medido utilizando leitura direta em medidor de pH de bancada da marca Edutec modelo EEQ9003-110, à temperatura de 20 °C. A determinação dos sólidos solúveis foi realizada em leitura direta do sobrenadante preparado em refratômetro digital de bancada da marca Atago, modelo RX-5000 $\alpha$ -Plus. A acidez titulável foi determinada por titulação com solução padronizada de hidróxido de sódio a 0,1N (AOAC, 1997).

O teor de ácido ascórbico foi determinado utilizando uma coluna Agilent C 18 (2,5 $\times$ 25mm, 5 $\mu$ m) e tampão fosfato pH 2,5 como fase móvel. O cromatógrafo líquido (modelo Varian com detector Ultravioleta-Visível) foi ajustado para leitura a 254 nm. O teor de compostos fenólicos totais foi determinado utilizando o método espectrofotométrico de Folin Ciocalteu com modificações, tendo como padrão o ácido gálico e resultados expressos em mg EAG.100g<sup>-1</sup> (equivalente ácido gálico por 100 g de frutos) (SINGLETON; ROSSI, 1965). As leituras foram realizadas a 725nm em espectrofotômetro ultravioleta-visível marca Perkin Elmer, modelo Lambda 25. A determinação da cor instrumental (L\*, a\*, b\*, Croma e Ângulo Hue) foi realizada utilizando-se colorímetro marca Konika Minolta. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para o teste de ordenação foi utilizado o teste de ordenação de diferença (cor, brilho, aroma doce, textura crocante, firmeza) e preferência (ABNT, 1994) com 60 avaliadores. Para os dados físico-químicos foi aplicado a análise de variância considerando um delineamento inteiramente casualizados. Em todas essas situações, quando necessário, utilizou-se o teste de Tukey para a comparação entre médias. No teste de ordenação, os dados foram analisados utilizando o teste de Friedman (NEWELL; MacFARLANE, 1987), considerando um nível de 5% de significância. O projeto foi aprovado no Comitê de Ética da UFSCar sob no 57988516.2.0000.5504.

## 3. Resultados e Discussão

As linhagens 37701 (B) e 313605 (C) não diferiram entre si para as variáveis pH e ácido ascórbico, sendo ambas diferentes da cultivar BRS Moema (A). Esse valor, do ponto de vista comercial, demonstra menores riscos de deterioração e contaminação por microrganismos nocivos à

saúde humana. Martins et al. (2015), verificaram pH de 5,08 em frutos de pimenta Biquinho *in natura*, próximos do encontrado nesse estudo.

Para o teor de sólidos solúveis totais, acidez total titulável e compostos fenólicos totais, a linhagem 37701 (B) diferiu-se das demais apresentando o menor valor 8,07%. A cultivar BRS Moema (A) e a linhagem 313605 (C) não diferiram entre si as nas três variáveis. A concentração e composição são componentes indispensáveis ao sabor do fruto, demonstrando a qualidade para o consumo *in natura* ou produção de subprodutos agroindustriais. Esse resultado mostrou-se inferior em comparação aos estudos realizado por Borges et al. (2015) com valores de sólidos solúveis totais de 10,3°Brix entre pimentas *in natura* do gênero *Capsicum spp.*

Tabela 1. Resultados das físico-químicas das pimentas Biquinho cultivadas em sistema orgânico.

Parâmetros	Cultivares		
	BRS Moema (A)	37701 (B)	313605 (C)
pH	4,96 <sup>b</sup>	5,20 <sup>a</sup>	5,01 <sup>a</sup>
Sólidos solúveis totais (°Brix)	9,25 <sup>b</sup>	8,07 <sup>a</sup>	9,10 <sup>b</sup>
Acidez total titulável (mg ácido cítrico/100 g)	329 <sup>b</sup>	263 <sup>a</sup>	335 <sup>b</sup>
Compostos fenólicos totais (mg EAG.100 g <sup>-1</sup> )	41,31 <sup>b</sup>	48,16 <sup>a</sup>	41,87 <sup>b</sup>
Acido ascórbico (µg/g)	28,95 <sup>b</sup>	12,77 <sup>a</sup>	17,10 <sup>a</sup>
Cor L*	40,8 <sup>a</sup>	37,3 <sup>b</sup>	39,5 <sup>a</sup>
Cor a*	45,5 <sup>a</sup>	39,5 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>
Cor b*	31,5 <sup>a</sup>	26,9 <sup>b</sup>	22,8 <sup>c</sup>
Croma	55,5 <sup>a</sup>	48,0 <sup>b</sup>	45,6 <sup>b</sup>
Ângulo Hue	34,4 <sup>a</sup>	34,1 <sup>a</sup>	29,8 <sup>b</sup>

Valores seguidos de letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \geq 0,05$ ).

Verificou-se que a acidez apresentou valores menores para linhagem 37701. Valores encontrados por Borges et al. (2015), situaram-se entre os valores de 156 mg/100g (Acesso CA - *Capsicum spp.*) e 561 mg/100g (Acesso OP - *C. chinense*). Para o teor de compostos fenólicos totais a linhagem 37701 apresentou teor de 48,16 mg EAG.100 g<sup>-1</sup>, superior as demais cultivares. Carvalho et al. (2014), obtiveram teor de 202,21mg EAG.100 g<sup>-1</sup>, em frutos de pimenta Biquinho. Para o teor de ácido ascórbico a cultivar BRS Moema apresentou valor de 28,95 µg/g, acima dos teores obtidos das linhagens. Oliveira (2011), afirmou que, em pimenta de cheiro em média 10,59 ± 1,31µg/100g e a pimenta dedo de moça foi quantificado 0,75 ± 0,37mg/100 g.

A cultivar BRS Moema (A) e linhagem 313605 (C) não diferiram em relação a cor L\*, contudo ambas foram diferentes da linhagem 37701 (B) (**Tabela 1**). O valor de L\* varia de 0 a 100, sendo que os valores mais altos indicando a maior reflectância da luz, isto é, coloração mais clara. Assim, a cultivar BRS Moema e a linhagem 313605 apresentaram cor mais clara. De acordo com Muhammad et al., (2014), afirmam que a mudança de cor nos frutos é um processo de síntese de um pigmento específico e é um dos indicadores de mudança química. As variáveis cor a\* e Croma a cultivar BRS (A) apresentou maiores valores, indicando que esta cultivar apresentou coloração vermelha com tendência para o escuro, diferindo das linhagens (**Tabela 2**). Segundo Nerdy (2018), as cores das frutas e legumes são agrupadas em quatro grupos principais, a saber: clorofila, antocianina, flavonóides e carotenóides. Para o ângulo Hue apenas a linhagem 313605 (C) diferiu das demais. O parâmetro cromático b\*, o qual se refere à cor amarela para valores positivos e cor azul para valores negativos, foi positivo para os três amostras, com maior valor para a cultivar BRS Moema (A), linhagem 37701 (B) e linhagem 313605 (C), respectivamente. Os ângulos observados para Hue permaneceram constantes o que pode ser relacionado positivamente quanto ao teor de carotenoides. Segundo Bernardo et al. (2015), estudo realizado com pimenta Biquinho, os valores de L indicaram baixa luminosidade do extrato relacionado à sua cor levemente escura, já os valores de a\* e b\* demonstraram a tendência do produto à coloração vermelha e amarela, todos esses

valores não diferiram. Quanto aos atributos de cor, brilho, aroma doce, gosto doce e firmeza não foram observadas diferenças entre as pimentas estudadas (**Tabela 2**). Contudo, verificou-se diferença entre as pimentas para textura crocante e preferência. Para textura crocante, as linhagens não diferiram entre si e apresentaram maior preferência, porém a linhagem 313605 (C) apresentou resultado semelhante ao cultivar BRS Moema (A). A menor somatória de preferência foi para cultivar BRS Moema (A).

Apesar desse estudo não ter questionado o motivo da preferência, possivelmente pode estar relacionado com tamanho, pois, a cultivar BRS Moema (A) apresentou menor tamanho médio dos frutos, de aproximadamente 1,5 cm de largura e 2,6 cm de comprimento. Segundo Hancock; Bringham (1988), afirmaram que o tamanho do fruto é motivo de seleção para os consumidores, que preferem frutos grandes e isto é de interesse para os melhoristas. Com maior preferência para as linhagens 37701 e 313605, pode-se ter associação com a maior intensidade da textura crocante para estas linhagens.

Tabela 2. Resultado do teste de ordenação de diferença e preferência entre as pimentas Biquinho.

Parâmetros avaliados	Cultivar BRS Moema (A)	Linhagem 37701 (B)	Linhagem 313605 (C)
Cor	118 <sup>a</sup>	129 <sup>a</sup>	113 <sup>a</sup>
Brilho	115 <sup>a</sup>	121 <sup>a</sup>	124 <sup>a</sup>
Aroma doce	123 <sup>a</sup>	108 <sup>a</sup>	129 <sup>a</sup>
Gosto doce	121 <sup>a</sup>	129 <sup>a</sup>	110 <sup>a</sup>
Textura crocante	98 <sup>b</sup>	146 <sup>a</sup>	116 <sup>ab</sup>
Firmeza	107 <sup>a</sup>	126 <sup>a</sup>	127 <sup>a</sup>
Preferência	102 <sup>b</sup>	125 <sup>a</sup>	133 <sup>a</sup>

*Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p \geq 0,05$ ). Diferença mínima nas somatórias  $\geq 22$ .*

Segundo Heinrich et al. (2015), afirmaram que frutos da pimenta biquinho são bastante apreciados, na forma processada como conserva, em função do aroma e da crocância.

Embora os resultados dos estudos sensoriais analisados não ofereçam embasamento para tirar conclusões definitivas, deve-se ressaltar que a quantidade desses estudos realizados até o momento não é suficiente.

#### 4. Conclusões

A cultivar BRS Moema apresentou valores superiores em termos nutricionais, com maior teor de sólidos solúveis e ácido ascórbico. Os valores de L\* indicaram cor mais clara para a cultivar BRS Moema e a linhagem 313605, porém as pimentas biquinho das linhagens 37701 e 313605 apresentaram maior somatória na preferência sensorial.

#### Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) n. do financiamento 001, pela bolsa de mestrado ao primeiro autor.

#### Referências

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR 13170: Teste de ordenação em análise sensorial. Rio de Janeiro. 1994. 7p.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of the Association of Official Analytical Chemists. 16 ed. Washington/USA: 1997. 1298p.
- ARBOS, K.A.; FREITAS, R.J.S.; STERTZ, S.C.; DORNAS, M.F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.30, n.2, p. 501-506, 2010.
- BERNARDO, C.O.; MARTINS, I.B.A.; PINTO, C.M.F.; PINTO, C.L.O.; BITTENCOURT, F.;

- MARTINS; M.L.; MARTINS, E.M.F. Desenvolvimento de extrato de pimenta biquinho como forma de conservação pós-colheita. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.4, p.1031-1036, 2015.
- BORGES, K.M.; VILARINHO, L.B.O.; MELO FILHO, A.A.; MORAIS, B.S.; RODRIGUES, R.N.S. Caracterização morfoagronômica e físico-química de pimentas em Roraima. **Revista Agro@ambiente on-line**, Boa Vista, v.9, n.3, p.292-299, 2015.
- CARVALHO, A.V.; MATTIETTO, R.A.; RIOS, A.O.; MORESCO, K.S. Mudanças nos compostos bioativos e atividade antioxidante de pimentas da região amazônica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.44, n.4, p.399-408, 2014.
- CARVALHO, S.I.C.; BIANCHETTI, L.; BUSTAMANTE, P.G.; SILVA, D.B. Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum spp.*) da Embrapa Hortaliças. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2003. 49p.
- DUTRA, F.L.A.; BRANCO, I.G.; MADRONA, G.S.; HAMINIUK, C.W.I. Avaliação sensorial e influência do tratamento térmico no teor de ácido ascórbico de sorvete de pimenta. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Paraná, v.4, n.2, p.243-251, 2010.
- HANCOCK, J.F.; BRINGHURST, R.S. Yield component interactions in wild populations of California *Fragaria*. **Revista HortScience**, v.23, n.5, p. 889-890, 1988.
- HEINRICH, A.G.; FERRAZ, R.M.; RAGASSI, C.F.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. Caracterização e avaliação de progênies autofecundadas de pimenta biquinho salmão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.33, n.4, p.465-470, 2015.
- LOURES, M.M.R.; MINIM, V.P.R.; CERESINO, E.B.; CARNEIRO, R.C.; MINIM, L.A. Análise descritiva por ordenação na caracterização sensorial de iogurte *diet* sabor morango enriquecido com concentrado proteico do soro. **Revista Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n.3, p.1-8, 2010.
- LUTZ, D.L.; FREITAS, S.C. Valor nutricional. In: RIBEIRO, C.S.C.; LOPES, C.A.; CARVALHO, S.I.C.; HENZ, G.P.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. (Ed.). Pimentas *Capsicum*. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, p. 200. cap. 4, p. 31-38, 2008.
- MARTINS, I.B.A.; BERNARDO, C.O.; PINTO, C.M.F.; OLIVEIRA PINTO, C.L.; MARTINS, M. L.; MARTINS, E.M.F. Avaliação do uso de extrato de pimenta biquinho para produção de geleada. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v.5, n.1, p. 28-34, 2015.
- MUHAMMAD, I.; ASHIRU, S.; IBRAHIM, I.D.; KANOMA, A.I.; SANI, I.; GARBA, S. Effect of Ripening Stage on Vitamin C Content in Selected Fruits. **International Journal of Agriculture, Forestry and Fisheries**, v.2, n.3, p. 60-65, 2014.
- NERDY, N. Determination of Vitamin C in Various Colours of Bell Pepper (*Capsicum annum L.*) by Titration Method. **ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia**, v.14, n.1, p.164-177, 2018.
- NEWELL, G.J.; MacFARLANE, J.D. Expanded tables for multiple comparison procedures in the analysis of ranked data. **Journal of Food Science**, v.52, n.6, p.1721-1725, 1987.
- OLIVEIRA, A.M.C. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e atividade antifúngica de pimenta do gênero *Capsicum spp.* 82 f. (Dissertação), Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina. 2011.
- REIS, D.R.D.; DANTAS, C.M.B.; SILVA, F.S.; PORTO, A.G.; SOARES, E.J.O. Caracterização biométrica e físico-química de pimenta variedade biquinho. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.11, n.21, p. 454, 2015.
- SIMIONATO, E.M.S.S.; MELLO, B.G.N.; SPADOTTO, I.C.; DAIUTO, E.R.; VIEITES, R.L. SMITH, R.E. Estimation of concentrations of phenolic compounds in peppers found in the brazilian market by the Folin-Ciocalteu method. **The Natural Products Journal**, v.5, n.4, p.244-245, 2015.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI JÚNIOR, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.16, n.3, p. 144-158, 1965.
- WHITAKER, V.M.; HASING, V.M.; CHANDLER, C.K. Historical trends in strawberry fruit quality revealed by a trial of university of Florida cultivars and advanced selections. **HortScience**, v.46, n.4, p.553-557, 2011.

**REVESTIMENTO À BASE DE FÉCULA DE MANDIOCA E GLICEROL PARA  
CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DO MAMÃO**

Fabiana Fumi Cerqueira Sasaki<sup>1,\*</sup>, Thaís Correia Gomes<sup>2</sup>, Luis Eduardo Pereira Silva<sup>2</sup>; Flávio Soares dos Santos<sup>2</sup>; Leonardo Fernandes Barbosa<sup>2</sup>; Elaine Goes Souza<sup>1</sup>; Márcio Eduardo Canto Pereira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Embrapa Mandioca e Fruticultura, Rua Embrapa, s/n, CEP: 44380-000, Cruz das Almas, BA*

<sup>2</sup> *Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, Rua Rui Barbosa, 710, CEP: 4480-000, Cruz das Almas, BA*

\* *Autor correspondente, e-mail: fabiana.sasaki@embrapa.br*

**Resumo:** Uma das alternativas para aumentar a vida útil dos frutos é a utilização de revestimentos comestíveis. A fécula de mandioca é uma barreira eficiente aos gases, porém, não ao vapor d'água. Os plastificantes aumentam a flexibilidade dos revestimentos e podem melhorar a barreira ao vapor d'água. Este trabalho objetivou determinar as concentrações de fécula de mandioca e do plastificante glicerol para uso como revestimento na conservação de mamões, do grupo Solo, 'THB'. Na primeira etapa foram estudadas concentrações de fécula de mandioca e, após a determinação da melhor concentração, foi estudada a adição do glicerol em diferentes concentrações ao revestimento. A concentração de 2,25% de fécula proporcionou aumento de conservação em seis dias e concentrações superiores prejudicaram o amadurecimento dos frutos. Porém, os revestimentos somente com a fécula apresentaram-se quebradiços. A adição de glicerol à fécula, independentemente da concentração contribuiu para que os revestimentos se tornassem mais flexíveis e aumentou o período de conservação relação ao controle. Conclui-se que a concentração de 2,25% de fécula de mandioca, acrescida de 1% de glicerol, aumenta a vida útil e mantém da qualidade de mamões 'THB'.

**Palavras-chave:** Carica papaya, qualidade, plastificante, pós-colheita.

***EDIBLE CASSAVA STARCH AND GLYCEROL COATING FOR PAPAYA POSTHARVEST STORAGE***

**Abstract:** One of the alternatives for extending fruit shelf life is the use of edible coatings. Cassava starch is an efficient barrier for gas, but not for water vapor. Plasticizers increase the flexibility of coatings and may improve their barrier for water vapor. This study aimed to determine the concentrations of cassava starch and glycerol plasticizer for use as a papaya conservation coating. First, cassava starch concentrations were studied and, after determining the best starch concentration, the addition of glycerol in different concentrations to the coating was studied. Starch at 2.25% extended shelf life by six days and higher concentrations impaired fruit ripening. However, starch-only coatings were brittle. The addition of glycerol to the starch, regardless of the concentrations of 1%, contributed to make the coatings more flexible and increased shelf life by seven days compared to the control. It was concluded that the 2.25% concentration of cassava starch plus 1% glycerol increases shelf life and maintains the quality of 'THB' papayas.

**Keywords:** Carica papaya, quality, plasticizers, postharvest.

**1. Introdução**

O mamão é um dos frutos mais cultivados do mundo devido sua boa aceitabilidade e ao grande aproveitamento do mesmo. Por ser um fruto climatérico e muito perecível, seu amadurecimento é, muitas vezes, acelerado por condições inadequadas de armazenamento e transporte.

Uma tecnologia com grande potencial de resultados positivos no controle do amadurecimento é o uso de revestimento comestível. Os revestimentos comestíveis, também chamados de coberturas comestíveis, atuam principalmente como barreira a gases e ao vapor de água, modificando a atmosfera interna dos frutos, retardando a senescência e aumentando a vida de prateleira dos mesmos (MAIA et al., 2000).

Um tipo de composto utilizado para revestimento são os polissacarídeos, que tem a finalidade de inibir as trocas gasosas, pois promove uma eficiente barreira semipermeável. Além disso, a utilização de revestimentos em frutos pode contribuir para uma melhoria no aspecto visual conferindo brilho e transparência (OLIVEIRA et al., 2007). O amido possui algumas vantagens para ser utilizado como base nos revestimentos comestíveis, tais como: baixo custo, alta produção, biodegradabilidade e fácil manipulação, porém, revestimentos formados exclusivamente com amido apresentam baixa propriedade de barreira ao vapor de água.

A adição de plastificantes, como o glicerol, aumenta a flexibilidade dos revestimentos, além de melhorar o déficit das propriedades de barreira ao vapor de água.

O presente trabalho teve como hipótese que o revestimento à base de fécula de mandioca com a adição do plastificante glicerol melhora a flexibilidade dos revestimentos e promove aumento do período de conservação dos mamões sem causar problemas no amadurecimento dos frutos. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da aplicação de formulações do revestimento comestível à base de fécula de mandioca com o plastificante glicerol na manutenção da qualidade pós-colheita de mamões.

## 2. Materiais e Métodos

Frutos de mamoeiro do grupo Solo, cultivar THB, provenientes de produtor comercial localizado no município de Mucuri, BA, foram colhidos no estágio 1 de amadurecimento (até 15% da casca amarela) e transportados para o Laboratório de Pós Colheita da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada no município de Cruz das Almas – BA.

O trabalho foi realizado em duas etapas. Na primeira, foram estudadas revestimentos com concentrações 0 (controle); 2,00 ; 2,25; 2,50; 2,75; e 3,0% de fécula de mandioca. Após a determinação da melhor concentração de fécula de mandioca, na segunda etapa, foram estudados os efeitos da adição do plastificante glicerol nas concentrações de 0; 1; 2; 3; 4 e 5% na formação dos filmes sobre os frutos. Frutos sem revestimento foram considerados como controle do experimento.

As formulações do revestimento à base de fécula de mandioca com ou sem a adição do plastificante glicerol foram obtidas por meio do aquecimento (em banho-maria a 80 °C), sob agitação, da suspensão da fécula de mandioca em água destilada, até sua geleificação. Após o resfriamento das suspensões até a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), os frutos foram imersos e colocados para secar sobre papel manteiga. Após a secagem, os frutos foram armazenados em temperatura ambiente (25±2 °C) até atingirem o estágio 5 de amadurecimento (casca completamente amarela).

As análises foram realizadas quando os frutos atingiram o estágio 5. Na primeira etapa, os frutos foram avaliados quanto aos seguintes aspectos: dias para atingir o estágio 5, acidez titulável (AT), teor de sólidos solúveis (SS), relação SS/AT e pH. Na segunda etapa, além aos variáveis citadas anteriormente, foram analisados a perda de massa acumulada e a firmeza.

O número de dias para atingir o estágio 5 foi contabilizado como o período entre o dia da colheita e o dia em que os frutos atingiram o estágio 5 (casca completamente amarela). A acidez titulável foi determinada em amostra de 1 g de polpa diluída em 40 mL de água. Esta amostra foi titulada com NaOH 0,1 N até atingir pH 8,1 e gotas de fenolftaleína foram adicionadas à amostra para confirmação do ponto final de titulação. Resultados foram expressos em porcentagem. Os teores de sólidos solúveis foram quantificados com auxílio de refratômetro digital portátil, marca Atago, modelo PR-101alpha, utilizando-se gotas do suco extraído da polpa homogeneizada e os resultados foram expressos em °Brix. A relação SS/AT foi determinada pelo quociente entre estes dois parâmetros. O pH foi determinado diretamente na polpa homogeneizada, com auxílio de um

pHmetro digital, marca Hanna, modelo pH21. A perda de massa foi determinada pela diferença entre a massa inicial e final dos frutos, com auxílio de balança semi-analítica, marca Marte, modelo BL 3200H e os resultados foram expressos em porcentagem. A firmeza foi determinada com auxílio de um penetrômetro analógico, marca Mc Cormick, modelo FT 327, com ponteira de 8mm de diâmetro e os resultados foram expressos em newtons.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado cinco repetições de dois frutos por tratamento. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para os experimentos com concentrações do revestimento a base de fécula de mandioca e teste de Scott-Knott para os experimentos com glicerol.

Número do cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado é AB24531.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Etapa 1- Estudo de concentrações de fécula de mandioca no revestimento

Os frutos tratados com concentrações superiores a 2,25% tiveram o amadurecimento prejudicado, pois após 12 dias de armazenamento ainda apresentavam a casca verde. Viana (2017) também observou que mamões ‘CMF-L78’ e ‘THB’ tiveram o amadurecimento prejudicado com concentrações acima de 2% de fécula de mandioca.

A concentração de 2,25% de amido proporcionou aumento de seis dias em relação ao controle, totalizando aproximadamente 11 dias de período de armazenamento, sem, contudo, alterar a maioria das características físico-químicas (Tabela 1). Porém, o revestimento formulado somente com a fécula de mandioca apresentou-se quebradiço, soltando da superfície durante o armazenamento (Figura 1A).

Tabela 1. Médias das características físicas e químicas do mamão ‘THB’ após atingirem o estágio 5 de amadurecimento. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2018.

Concentrações Fécula de mandioca	Dias para atingir o estágio 5	AT (%)	SS (%)	Relação SS/AT	pH
0,00%	5 c	0,083 ab	9,8 b	118,7 b	5,6 b
2,00%	7 b	0,070 b	11,3 a	167,3 a	5,6 b
2,25%	11 a	0,094 a	10,5 ab	112,8 b	6,1 a
Média	7,6	0,082	10,53	132,93	5,77
CV(%)	14,71	9,75	6,10	14,70	5,84

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. AT: acidez titulável e SS: sólidos solúveis.

#### 3.2. Etapa 2 – Estudo de concentrações do plastificante glicerol no revestimento à base de fécula de mandioca

A adição do plastificante glicerol à cobertura de fécula de mandioca proporcionou maior flexibilidade e aderência ao revestimento o qual não apresentou fragmentação e descolamento da casca dos frutos (Figura 1B). Resultado semelhante ao observado por Gomes et al. (2018) em mamões revestidos com fécula de mandioca adicionados do plastificante sorbitol.

Os frutos sem revestimento (controle) apresentaram amadurecimento antecipado em relação aos frutos com uso de coberturas, independentemente da concentração de glicerol utilizada (Tabela 2). Os frutos revestidos somente com a fécula de mandioca e o revestimento com fécula de mandioca acrescida de 1% de glicerol apresentaram maior número de dias para atingir o estágio 5, indicando que o amadurecimento destes frutos foi mais lento.

A perda de massa acumulada foi significativamente mais elevada nos tratamentos somente com a fécula de mandioca e para o revestimento com fécula acrescida de 1% de glicerol, sendo



seguida dos tratamentos com revestimento com fécula acrescida de 2, 3, 4 e 5%. O tratamento controle apresentou significativamente menor perda de massa em relação aos demais tratamentos (Tabela 2), o que pode ser atribuído ao menor número de dias para amadurecimento.

A acidez titulável foi significativamente maior nos frutos do tratamento controle em relação aos demais tratamentos, os quais não apresentaram diferença significativa, independentemente da concentração de glicerol (Tabela 2). Isso refletiu na relação SS/AT (Tabela 2), pois como não houve diferença significativa entre os tratamentos nos teores de sólidos solúveis as diferenças observadas foram devidas às diferenças de acidez titulável.

O revestimento de fécula de mandioca, independentemente da concentração de glicerol adicionada, não interferiu nos parâmetros firmeza da polpa, teor de SS e pH (Tabela 2), o que é positivo do ponto de vista de aceitação dos frutos pelos consumidores.

Tabela 2. Médias das características físicas e químicas mamões ‘THB’, após atingirem o estágio 5 de amadurecimento, tratados com diferentes concentrações do plastificante glicerol, adicionado ao revestimento à base de fécula de mandioca 2,25%. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2018.

Tratamento	Dias para o estágio 5	Perda de massa acumulada (%)	Firmeza (N)	AT (%)	SS (°Brix)	Relação SS/AT	pH
Controle	4,0 c	4,76 a	5,29	0,15 a	11,08	73,12 b	6,13
0% Glicerol	11,0 a	10,39 c	4,21	0,12 b	11,26	95,87 a	6,12
1% Glicerol	11,2 a	12,30 c	3,04	0,12 b	10,90	92,01 a	6,17
2% Glicerol	8,4 b	8,44 b	4,80	0,12 b	11,06	93,66 a	6,20
3% Glicerol	8,8 b	8,17 b	5,19	0,11 b	10,98	101,35 a	6,19
4% Glicerol	8,2 b	9,72 b	3,43	0,13 b	11,64	87,65 a	6,18
5% Glicerol	8,4 b	8,54 b	4,41	0,12 b	11,44	94,40 a	6,13
Média	9,04*	8,90*	4,51 <sup>ns</sup>	0,13*	11,20 <sup>ns</sup>	91,15*	6,16 <sup>ns</sup>
CV(%)	8,57	21,37	32,08	1,73	5,75	13,17	2,84

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. AT: acidez titulável e SS: sólidos solúveis.



Figura 1. Mamão ‘THB’ revestido (A) somente com 2,25% de fécula de mandioca, apresentando aspecto de quebradiço e descolamento do revestimento e (B) com 2,25% de fécula de mandioca e 1% de glicerol sem fragmentação e descolamento do revestimento, após 10 dias de armazenamento à temperatura ambiente.

#### 4. Conclusões

A concentração de 2,25% de fécula de mandioca proporcionou aumento de seis dias na vida útil do mamão, em relação ao controle, porém o revestimento se apresentou quebradiço.

A associação de fécula de mandioca a 2,25% e glicerol, independentemente da concentração, tornaram o revestimento mais flexível, melhorando sua aparência. A adição de 1% de glicerol destacou-se por promover maior conservação de mamões ‘THB’.

### Agradecimentos

À Embrapa pelo financiamento do projeto SEG 22.14.11.004.00.00

À Fundação de Amparo à Pesquisada do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão das bolsas de iniciação científica ao segundo, terceiro, quarto e quinto autores.

À empresa Bello Fruit pela doação dos mamões.

### Referências

- GOMES, T. C.; SILVA, L. E. P.; SANTOS, F. S. dos; BARBOSA, L. F.; SOUZA, E. G.; PEREIRA, M. E. C.; SASAKI, F. F. C. Revestimentos à base de fécula de mandioca e sorbitol para conservação da qualidade de mamões. In: JORNADA CIENTÍFICA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA, 12., 2018, Cruz das Almas. Anais... Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2018. Publicação online (no prelo).
- MAIA, L.H.; PORTE, A.; SOUZA, V.F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v.18, n.1,p.105-128, 2000.
- OLIVEIRA, T. V. Caracterização pós-colheita e uso de revestimento à base de fécula de mandioca em frutos de mamoeiro da linhagem CNPMF-L78. 2017. 62p. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, UFRB, Cruz das Almas, BA, 2017.
- OLIVEIRA, C.S.; GRDEN, L.; RIBEIRO, M.C.O. Utilização de filmes comestíveis em alimentos. Série em Ciência e Tecnologia de Alimentos: Desenvolvimentos em Tecnologia de Alimentos, n.1,p.52-57, 2007.

## **ANEXO 1**

### **Resumo Palestrantes**



**DESVENDANDO O COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DA PLANTA, MODULADO  
POR UMA COMUNIDADE MICROBIANA SINTÉTICA, USANDO UMA PLATAFORMA  
DE FENOTIPAGEM EM TEMPO REAL**Jaderson Armanhi<sup>1,2,3</sup>, Rafael de Souza<sup>1,2,3</sup>, Paulo Arruda<sup>1,2,3,4,\*</sup><sup>1</sup>*Unidade Mista de Pesquisa Unicamp/Embrapa*<sup>2</sup>*Genomics for Climate Change Research Center (GCCRC)*<sup>3</sup>*Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética*<sup>4</sup>*Depto de Genética e Evolução, Microbiologia e Imunologia, Universidade de Campinas, Brasil**\*Autor correspondente: parruda@unicamp.br*

A associação de plantas com comunidades microbianas é fundamental para modular, direta ou indiretamente, o comportamento fisiológico, facilitando a aquisição de nutrientes, a adaptação as alterações ambientais tais como restrição hídrica, temperaturas baixas ou elevadas, salinidade e ataques de patógenos. Apesar das crescentes evidências dos benefícios de comunidades microbianas, o conhecimento sobre os mecanismos que governam a resposta da planta à interação benéfica planta-microorganismos ainda é muito limitado. Neste trabalho, desenvolvemos uma plataforma de fenotipagem em tempo real para avaliar alterações no comportamento fisiológico de plantas de milho induzidas por uma comunidade bacteriana sintética (SynCom). A plataforma é capaz de medir de forma contínua, ao longo de todo o desenvolvimento a planta, uma serie de parâmetros fisiológicos importantes para o estudo da resposta das plantas a estresses abióticos. Utilizando essa plataforma, observamos que híbridos de milho, geneticamente distintos, quando inoculadas com a SynCom, respondem diferentemente a restrição hídrica, ao aumento de temperaturas e alteram o fluxo de água pela planta. Híbridos responsivos a SynCom aumentaram a produção de biomassa, diminuíram a temperatura das folhas em até 4oC, e retardaram a resposta das plantas ao estresse hídrico. Sob condições de déficit hídrico severo, as plantas não inoculadas, apresentaram rápido tombamento, um sintoma típico de perda de turgescência em relação as plantas inoculadas com a SynCom. A reidratação às plantas, após longo período sob restrição hídrica, foi muito mais rápida nas plantas inoculadas em relação as não inoculadas, indicando que a SynCom otimiza o uso da água no processo de recuperação. A fenotipagem em tempo real revelou que o melhor uso da água pelas plantas inoculadas com a SynCom pode explicar o melhor controle da temperatura das folhas, um aspecto fundamental para a eficiência fotossintética. Finalmente, os dados sobre produtividade mostraram que em condições de déficit hídrico, as plantas inoculadas com a SynCom controlam parâmetros fisiológicos fundamentais diminuindo as perdas de produção.

## MANEJO SUSTENTÁVEL DOS SOLOS E PLANTAS

José Eduardo Corá

*Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp Jaboticabal, jose.cora@unesp.br*

O solo (corpo tridimensional na paisagem) é resultado da ação combinada dos fatores de formação [material de origem, relevo, organismos (fauna e flora) e clima], num espaço de tempo e de processos pedogenéticos de formação (adição, perda, transformação e translocação). Portanto, o conjunto de atributos (químicos, físicos, biológicos, morfológicos e mineralógicos) de um determinado solo depende da interação entre os fatores e os processos de formação tais como: composição da rocha de origem, o que afeta a taxa de alteração pelo intemperismo, das condições climáticas, da vegetação existente e da sua posição na paisagem. Dessa maneira, o produto-solo difere do material do qual foi derivado em muitas propriedades e características, cujo conhecimento permite prever seu padrão de comportamento, ou seja, suas limitações e qualidades para um determinado uso (= aptidão). A aptidão possibilita definir a capacidade de suporte do solo para um determinado uso (atividade), sendo a base para estabelecer o plano de manejo adequado e racional para a atividade agrícola. O plano de manejo com base na capacidade de suporte auxilia na prevenção da degradação do solo e na manutenção da estabilidade da produtividade da atividade (culturas). Também assim fica clara a necessidade de se conhecer as características da atividade agrícola para se determinar as limitações e qualidades do solo. Quando esta não é compatível com a aptidão e capacidade de suporte do solo (uso e/ou manejo do solo), pode se tornar inviável tanto de forma econômica quanto ambiental, diminuindo a capacidade produtiva do solo ao longo do tempo. Portanto, é necessário conhecer as limitações e qualidades do solo para sua adequada utilização, para que, então, essa atividade seja econômica e ambientalmente sustentável. O manejo do solo é definido como a combinação das operações de cultivo, práticas culturais, fertilização, correção da acidez do solo e outros tratamentos aplicados ao solo que visam maximizar a produção de plantas. Portanto, é de caráter complexo, tanto em decorrência da quantidade de operações e interações entre elas, como das interações com cada tipo de solo. O Brasil é pioneiro em desenvolvimento de técnicas de manejo de solos tropicais como nenhum outro país. Nas últimas décadas vem desenvolvendo e adotando tecnologias que permitiram que o perfil das mudanças na cobertura e uso de terra tornasse o agronegócio no país a atividade que mais contribui com o produto interno bruto do país, com sustentabilidade econômica e ambiental. Exemplos evidentes são a adoção dos sistemas de plantio direto e de ferramentas de agricultura de precisão pelo setor produtivo do país, os quais possibilitaram colocar o Brasil como um dos signatários de um acordo global (iniciativa 4 per 1000) que tem como objetivo principal manter o aquecimento global abaixo de 2 ° C em decorrência da diminuição da emissão de gases de efeito estufa e por um aumento de 0,4% ao ano o carbono total do solo, o que pode ser alcançado pelo Brasil com o uso de ferramentas de agricultura de precisão, visando racionalizar o uso de insumos naturais (incluindo solo e água) e artificiais (fertilizantes e agroquímicos em geral) e pela adoção do sistema de plantio direto. Portanto, dando ao solo novos protagonismos na economia do país.

**DIGITAL AGRICULTURE TECHNOLOGIES FOR PRECISE AND SUSTAINABLE  
WATER USE**

Steve R. Evett

*Soil and Water Management Research: Bushland, TX, ARS-USDA, USA, [steve.evett@usda.gov](mailto:steve.evett@usda.gov)*

Precision agriculture as a conceptual framework for farming operations responds to the need to manage inter-field and intra-field variability on farms, within watersheds, regionally and internationally. How PA is used, the objectives involved, and the technologies that support it have changed substantially. Since the inception of the U.S. Global Positioning System (GPS) becoming available for public use in the 1980s, it has been joined by geographical positioning systems run by China, the European Union and Russia. Coupled with geographical information system (GIS) computer technologies that were first developed for satellite imagery, PA became a mainstream tool for farmers to plan site-specific agricultural operations, now including site-specific irrigation. Equipment with GPS steering and position-aware supervisory control systems allowed pre-determined site-specific prescription maps to be downloaded into equipment and used, for example, to turn off a spraying system as it passed over a waterway. Today, similar prescription maps can be developed for precision irrigation using variable rate irrigation (VRI) center pivot or linear sprinkler systems, and even precision-enabled drip irrigation systems. Lack of adequate decision support systems (DSS) to drive VRI is a problem that is being resolved at both field-scale and larger (irrigation district and basin) scales. The VRI DSS in existence are based variously on soil spatiotemporal properties, including bulk electrical conductivity and soil water content, as well as on plant spatiotemporal properties such as canopy temperature, crop water stress index, cover fraction and normalized difference vegetation index (NDVI). These operate using data from one or more of multiple sources: satellites, such as Landsat and SMAP, aerial imaging systems including hyperspectral imaging, sensors placed on moving irrigation systems, and sensors mounted on tractors and other machines moving in the field. Spatially variable irrigation management now can be accomplished using 30-m resolution maps of crop water use based on multi-satellite sensor fusion. Many of the more successful PA technologies involve on-board sensor systems that feed data to embedded computing platforms that make on-the-fly adjustments to equipment. Such active and direct PA systems use modern technology that provides the ability, for instance, turn on variable rate irrigation nozzles where biotic stress sensors indicate crop water stress. Such supervisory control and data acquisition (SCADA) systems rely on algorithms based on sophisticated understanding of biophysics and biological systems. Today, the confluence of computing power, data acquisition and management infrastructure, new modeling paradigms, and spatial decision, support users in new possibilities for precise and sustainable irrigation in the new age of digital agriculture.

**FIBRAS VEGETAIS E SEUS COMPONENTES COMO FONTE PARA MATERIAIS BIO-  
BASEADOS**

Elisabete Frollini

*Grupo de Materiais Macromoleculares e Fibras Lignocelulósicas, Centro de Ciência e Tecnologia de BioRecursos, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, elisabete@iqsc.usp.br*

Materiais poliméricos são principalmente obtidos a partir de compostos orgânicos oriundos de fontes fósseis, os quais usualmente correspondem a moléculas pequenas, de estrutura química simples. O uso destas moléculas em reações que levem a polímeros, na forma como obtidas ou após alguma modificação química, pode envolver uma série de etapas, considerando desde aquelas necessárias para obtenção de determinada molécula, até a etapa final de processamento do polímero visando aplicações específicas. Neste cenário, o uso da biomassa como matéria-prima para geração de materiais poliméricos vem assumindo grande importância. A biomassa lignocelulósica tem como principais constituintes lignina, hemiceluloses e celulose, as quais correspondem a macromoléculas. A característica macromolecular destes componentes leva a um grau estrutural mais avançado, comparativamente às pequenas moléculas isoladas de fontes fósseis. Isto permite que para diversas aplicações, poucas etapas estejam envolvidas entre a extração destas moléculas da biomassa e a aplicação das mesmas. Neste contexto, tem-se desenvolvido estudos em que lignina tem sido usada como "macromonômero", assim como um derivado de lignina disponível em larga escala, o lignossulfonato. A partir destas macromoléculas, matrizes termorrígidas fenólicas têm sido sintetizadas e reforçadas com fibras lignocelulósicas, tais como sisal, bagaço de cana de açúcar, coco, amplamente disponíveis no país. Também poliuretanos têm sido sintetizados, usando como reagente lignina, lignossulfonatos, celulose, visando aplicações em compósitos e filmes. Mantas não tecidas foram obtidas a partir da eletrofiação de soluções baseadas em fibras lignocelulósicas e seus componentes, combinadas com politereftalato de etileno reciclado, assim como tendo como solutos ésteres de celulose, dentre outros estudos que poderiam ser citados. Considerando a área disponível para cultivo no país, entende-se como estratégico que esforços sejam concentrados no sentido de valorizar matérias primas provenientes da agricultura, com destaque para as fibras lignocelulósicas.



**BIOPRODUCTS, BIOECONOMY AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT OF  
RENEWABLE RESOURCES**

Michael Ladisch<sup>1,\*</sup>, Eduardo Ximenes<sup>1</sup>, Antonio Freitas dos Santos<sup>1</sup>, Cristiane Farinas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Laboratory of Renewable Resources Engineering, Agricultural and Biological Engineering  
Department, Purdue University, West Lafayette, IN*

<sup>2</sup>*EMBRAPA Instrumentacao, Sao Carlos/SP, Brazil*

*\*Corresponding author: ladisch@purdue.edu*

A sustainable biorefinery industry that utilizes lignocellulosic feedstocks requires markets that combine large volumes of commodities (i.e., biofuels) with high margin bioproducts derived from biomass components formed as co-products. Co-products are extremely valuable since they have a low carbon footprint, and often achieve single use functions that are difficult to attain using petroleum based processing. Examples include biodegradable adsorbents that are effective in drying ethanol (instead of using benzene as the drying agent); nanocellulose derived from bacterial fermentation of residual sugars; and specialty sugars (such as xylose and arabinose) which may be fermented to a food product. Successful economics of a biorefinery requires both cost-effective manufacturing technology (i.e., enzymes, microorganisms, and separations media) and a portfolio of products that generate consistent revenue streams. This talk will address products and markets for lignocellulose derived molecules, and the potential impact of integrated strategies on biorefinery economics.

**EXPLORAÇÃO DO MICROBIOMA DAS PLANTAS PARA A PRODUÇÃO  
SUSTENTÁVEL DE ALIMENTOS**

Rodrigo Mendes

*Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna/SP, rodrigo.mendes@embrapa.br*

Comunidades microbianas desempenham um papel fundamental no funcionamento das plantas, influenciando sua fisiologia e desenvolvimento. Embora a importância do microbioma da rizosfera para o crescimento das plantas tem sido amplamente reconhecida, para a grande maioria dos microrganismos não existe conhecimento. Neste contexto, para explorar o microbioma das plantas em direção a uma produção sustentável de alimentos é essencial conhecer quais microrganismos compõe o microbioma da rizosfera e que funções eles desempenham. Assim, discutimos as principais funções dos microrganismos da rizosfera e como eles afetam o desenvolvimento, nutrição e saúde da planta hospedeira com o objetivo de elucidar mecanismos envolvidos nas interações multitróficas e diálogos químicos que ocorrem na rizosfera. Finalmente, destacamos estratégias para redirecionar ou remodelar o microbioma da rizosfera em favor de microrganismos benéficos ao crescimento e à saúde das plantas.

**DIGITAL AGRICULTURE: EMPOWERING WORLD AGRICULTURAL  
DEVELOPMENT: VISION OF A GLOBAL INVESTOR AND ENTREPRENEUR**

Howard Lee Morgan

*Chairman, B Capital Group, [howard@firstround.com](mailto:howard@firstround.com)*

The role of digital technology in agriculture has been increasing at an exponential rate in the past few years, and will continue to do so for the foreseeable future. Increases in yield through better soil measurement, to precision agriculture at the individual plant level, to the use of artificial intelligence (AI) in supply chain, vision systems and operation of every bit of farm equipment are all relying on the low cost and rapid spread of digital solutions applied to every step in agriculture. I will share some of the lessons I have learned from new startups at every stage (growing through consumption), and lessons learned from the giants in agricultural machinery and services. All are spending the money on research, development and deployment of the latest computer, sensor, and communications techniques to help us figure out how to feed 9-10 billion people over the next decade – at lower cost and with more attention to how we affect the planet than ever before.

## MULTIVARIATE ANALYSIS OF CHEMICAL SENSORS DATA

Corrado Di Natale

*University of Rome Tor Vergata, Department of Electronic Engineering, [dinatale@uniroma2.it](mailto:dinatale@uniroma2.it)*

The characterization of complex samples requires the knowledge of several parameters. The measure of these quantities can be accomplished either using selective methods (as in classical analytical approaches) or unspecific approaches where the instrumental signals are obtained by the combination of several parameters. GC/MS is a typical example of the first case, while electronic nose and tongue and spectrophotometry is an example of the second case. Disregarding the instrumental approach, the data are multivariate in character and their analysis requires a change of paradigm respect to the standard univariate data analysis. In this seminar the most popular of these techniques will be reviewed with a special emphasis to principal component analysis, as an explorative method, and partial least squares discriminant analysis, as a classifier. The methods will be illustrated through examples related to the sensor arrays and spectral data.

## NANOTECHNOLOGY AND ARTIFICIAL INTELLIGENCE

Oswaldo N. Oliveira Jr.

*São Carlos Institute of Physics, University of São Paulo, Brazil, chu@ifsc.usp.br*

The ongoing revolution with artificial intelligence (AI) is likely to change the landscape of science and technology, with great impact on all sectors of society. The recent progress in IA has stemmed from a convergence of technologies, from the Big Data movement to new approaches to machine learning and natural language processing. A common feature in this convergence is the need to collect and analyze large amounts of data, in many cases requiring a multitude of devices deployed, including sensors, biosensors, cameras and computer hardware in general. This is why nanotechnology is essential for the development of intelligent systems. In precision agriculture, for instance, sensors and controlled-releasing systems for nutrients and pesticides depend on nanomaterials and other nanotech technologies. Furthermore, in addition to nanotechnology being instrumental to AI, the converse is also true. For machine learning has been increasingly employed in strategies of materials discovery and design, thus assisting in producing novel nanomaterials and applications. In this presentation, selected examples will be given of computer-assisted diagnosis that relies on AI and nanotechnology, which can be of value for the agribusiness.

**REDUÇÃO DE DESPERDÍCIO NA PÓS-COLHEITA**

Steven A. Sargent

*University of Florida, Horticultural Sciences Department, Gainesville FL, sasa@ufl.edu*

Atualmente a humanidade passa por vários desafios relativos a segurança alimentar, uma população mundial crescente, com a perspectiva de em 2050 atingirmos 9 bilhões de pessoas, e um cenário com um incremento em desastres naturais com perdas de produção ainda em campo. Apesar de todos avanços em tecnologias, as perdas de alimentos podem atingir em alguns casos até 40%. Os valores são semelhantes tanto em países desenvolvidos, como em desenvolvimento, sendo que nos desenvolvidos ocorre mais a nível de consumidor, e nos demais, segmentados anteriormente ao consumidor, durante a colheita, comercialização, etc. As razões são distintas, sendo que em países em desenvolvimento, em especial relacionada a infraestrutura deficiente e nos desenvolvidos a outras razões, como padrões elevados de qualidade. Importante ressaltar que não é somente o produto em si que é perdido e destinado a lixões, mas também a água utilizada, energia, insumos, etc. Ações para mitigar esta situação vão desde conscientização de todos aqueles envolvidos, inserção de boas práticas agrícolas, tecnologias, etc. No caso de frutas e hortaliças, as ações e tecnologias necessitam levar em conta principalmente a perecibilidade desses produtos, devido ao seu metabolismo com elevadas taxas respiratórias. Assim, as ações a serem realizadas devem focar neste aspecto, ou adequando a temperatura de armazenamento a níveis de redução do seu metabolismo, ou minimizar o máximo o impacto físico sofrido pelo fruto. Por meio da aplicação de tecnologias como atmosfera modificada, embalagens adequadas, sistemas de rastreabilidade, etc, esta situação pode ser melhorada. Um importante aliado a esse processo, é o melhoramento genético, o qual pode alterar os processos de senescência, retardando assim a deterioração, suscetibilidade aos vários estresses ambientais, ou mesmo modificando sabores, aromas, etc.



Apoio:



Patrocínio:



Iniciativa:



MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO

