



APLICAÇÃO DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE FOSFATO EM AMOSTRAS DE SOLO

Laura da S. Rocha¹; Pedro Henrique F. Mendes²; Davison Gabriel C. dos Santos³; Douglas G. da Silva⁴; Augusto Cezar M. Aleluia⁵; Bruno O. Moreira⁶; Anaildes L. de Carvalho⁷

¹UESB E-mail: lauraengflorestal@gmail.com; ²UESB E-mail: peufmendes@gmail.com; ³UESB E-mail: 202310399@uesb.edu.br; ⁴UESB E-mail: douglas.goncalves@uesb.edu.br; ⁵UESB E-mail: augusto.aleluia@uesb.edu.br; ⁶UFBA bomoreira@gmail.com; ⁷UESB alcarvalho22@gmail.com

Palavras-Chave: Espectrofotometria, matriz Doehlert, planejamento fatorial.

Introdução

O fósforo é um dos elementos mais abundantes na superfície da Terra, comumente encontrado na forma de fosfato. Ele desempenha um papel crucial nos processos bioquímicos, sendo essencial para a fotossíntese nas plantas (Ganesh, 2012). Altas concentrações de fosfato estão diretamente associadas ao crescimento vegetal (Yaqoop, 2003). Nos solos, o fosfato é geralmente insolúvel devido à sua ligação com cálcio, ferro e alumínio, ou por estar incorporado em matéria orgânica, como resíduos humanos e animais, ou matéria em decomposição (Ganesh, 2012).

Entre os fatores que influenciam o crescimento das plantas, destaca-se a disponibilidade de nutrientes, como o fósforo (P), especialmente crítico nos solos brasileiros. A ausência de fósforo é uma característica comum em solos tropicais, principalmente devido à adsorção e fixação do P nas partículas de argila e à sua imobilização resultante das fortes interações com óxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al), componentes predominantes nesses solos. Assim, em solos manejados adequadamente para o cultivo, a neutralização do alumínio exerce uma influência direta na quantidade de fósforo disponível para as plantas, reduzindo sua imobilização (Vian, 2024).

Para corrigir essa deficiência, frequentemente aplicam-se fosfatos solúveis em quantidades superiores às exigências das culturas, uma vez que grande parte do fósforo adicionado ao solo não se torna imediatamente disponível para as plantas (Silva Filho, 2002). Com o aumento da adoção do sistema de plantio direto, cresce a importância de compreender a magnitude dessas reações e a mobilidade do fósforo no solo, o que pode resultar em zonas com altas concentrações iônicas (Ernani, 2001). Um desafio recorrente é a escolha de extratores que estimem com precisão a quantidade de fósforo disponível no solo para absorção pelas plantas, aspecto crucial na determinação da necessidade de adubação (Rossi, 1999).



Nos últimos anos, grandes quantidades de fosfato têm sido usadas em bebidas, detergentes, fertilizantes e indústrias açucareiras. Portanto, análises utilizando métodos altamente sensíveis são necessárias para a determinação de fosfato no solo. Métodos analíticos propostos para a determinação de fosfato em níveis de ppm incluem colorimetria (Willians, 1993), cromatografia líquida de alta eficiência (Botker, 1994), cromatografia de íons (IC) (Ruiz-Calero, 2005) e espectrofotometria (Ganesh, 2012; Mahadevaiah, 2007; Habibah, 2018; Colzani, 2017).

Dentre esses métodos, a espectrofotometria envolvendo o molibdato de amônio é o mais comumente utilizado, por ser simples e sensível, adequado para análises de controle de processo de rotina (Ganesh, 2012). Esse método espectrofotométrico envolve a reação do fosfato com o molibdato em meio ácido, formando o ácido fosfomolibdico. A determinação pode ser realizada com ou sem extração, seguida de leitura da absorvância em comprimentos de onda de 300 a 400 nm (Ganesh, 2012; BABKO, 1974).

O método utilizado para essa otimização envolveu a reação descrita anteriormente, seguida da extração de fosfato em amostras de solo. Para a extração de fosfato, é essencial aplicar técnicas estatísticas e matemáticas que proporcionem resultados rápidos e precisos, visando à obtenção de parâmetros ideais de extração (Ji, 2020). Na literatura, diversas metodologias de otimização têm sido relatadas, sendo a metodologia de superfície de resposta (MSR) uma opção atrativa por sua adequação na avaliação das condições ideais de processos complexos, buscando máxima eficiência (Ghvariya, 2011). A MSR explora a relação entre múltiplas variáveis independentes (ou fatores) e uma ou mais variáveis dependentes, permitindo a otimização simultânea de diversos parâmetros e a avaliação de suas interações (Bezerra, 2019).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo a otimização da extração de fosfato em solos presentes no município de Vitória da Conquista, na região sudoeste da Bahia, utilizando a metodologia de superfície de resposta.

Material e Métodos

Coleta das amostras de solo

As amostras de solo foram coletas no município de Vitória da Conquista-Ba, a área de estudo encontra-se em um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual Montana, popularmente conhecida como mata de cipó (IBGE, 2012), localizada no campus da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB).



As amostras foram coletadas em duas glebas homogêneas, cada uma com uma área aproximada de 2.000 m². A primeira área corresponde a um cultivo de bananeiras (*Musa spp.*) e a segunda, a pastagens degradadas. Em cada área, o solo foi coletado em amostras compostas, retiradas de duas profundidades: 0-20 cm e 20-40 cm. Após a coleta, as amostras foram enviadas para o laboratório de Química Analítica da UESB para posterior análise.

Extração do fosfato

As amostras de solo foram peneiradas em malhas de 40 a 60 mesh e secas em estufa a 160°C por 2 horas. Após as etapas de peneiramento e secagem, as amostras foram pesadas em balança analítica. Em seguida, foi adicionado o solvente extrator e as amostras foram submetidas à sonificação. Posteriormente, o sistema passou pelo processo de filtração.

Após a filtração, foi adicionado 1 mL do reagente complexante fosfomolibdato, com concentração de $6,66 \times 10^{-6}$ mol/L. As amostras foram deixadas em repouso por um período, seguido de aquecimento em banho-maria e subsequente centrifugação. Por fim, o sobrenadante foi cuidadosamente retirado para posterior análise.

Otimização multivariada da extração do fosfato

A extração de fosfato foi realizada utilizando um espectrofotômetro, operando na frequência de 300 nanômetros. As variáveis estudadas foram otimizadas por meio de um planejamento fatorial completo (PFC) 2⁴ e o planejamento fatorial fracionário (PFF) 2⁵⁻¹. No PFC, as variáveis otimizadas foram: tempo de ultrassom, tempo de centrifugação, tempo no banho-maria e tempo de repouso. No PFF, as variáveis estudadas foram: massa da amostra, concentração do solvente extrator, tipo de solvente extrator, volume do solvente extrator e temperatura do banho-maria.

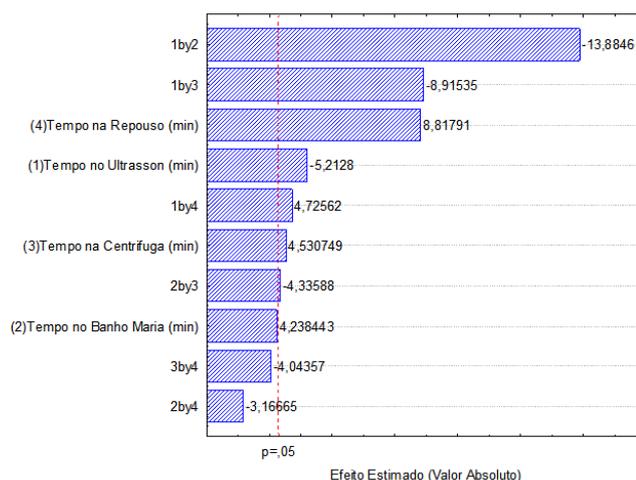
Após a otimização do planejamento fatorial completo e planejamento fatorial fracionário, foi utilizada uma matriz de Doehlert (MD) como metodologia de superfície de resposta com o objetivo de determinar as condições ótimas para as variáveis estudadas e maximizar a extração de fosfato. Foram empregados diferentes níveis para as variáveis investigadas: tempo no ultrassom (5 níveis), tempo na centrífuga (7 níveis), tempo no banho-maria (3 níveis), tempo de repouso (7 níveis), massa da amostra (4 níveis), concentração do solvente extrator (8 níveis), volume do solvente extrator (7 níveis) e temperatura do banho-maria (3 níveis). O domínio experimental foi explorado com um total de 23 experimentos, incluindo três repetições no ponto central. Todos os experimentos foram realizados em ordem aleatória, tanto para os PFC e PFF, quanto para a MD.

Resultados e Discussão

O planejamento fatorial 2^4 foi realizado com o intuito de investigar, de forma preliminar, a influência das variáveis e suas interações no processo de extração de fosfato em amostras de solo. Os experimentos revelaram que todas as variáveis foram significativas para o domínio experimental estudado.

O gráfico de Pareto (Figura 1) mostra as variáveis significativas com um nível de confiança de 95%. Pode-se inferir que as variáveis tempo de repouso, tempo no ultrassom e tempo na centrífuga afetaram significativamente o sistema. Embora a variável tempo no banho-maria não tenha sido significativa de forma isolada, mas sua interação com o tempo no ultrassom mostrou-se significativa. Por essa razão, essa variável foi incluída na otimização utilizando a Matriz de Doehlert (MD).

Figura 1: Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento experimental completo.

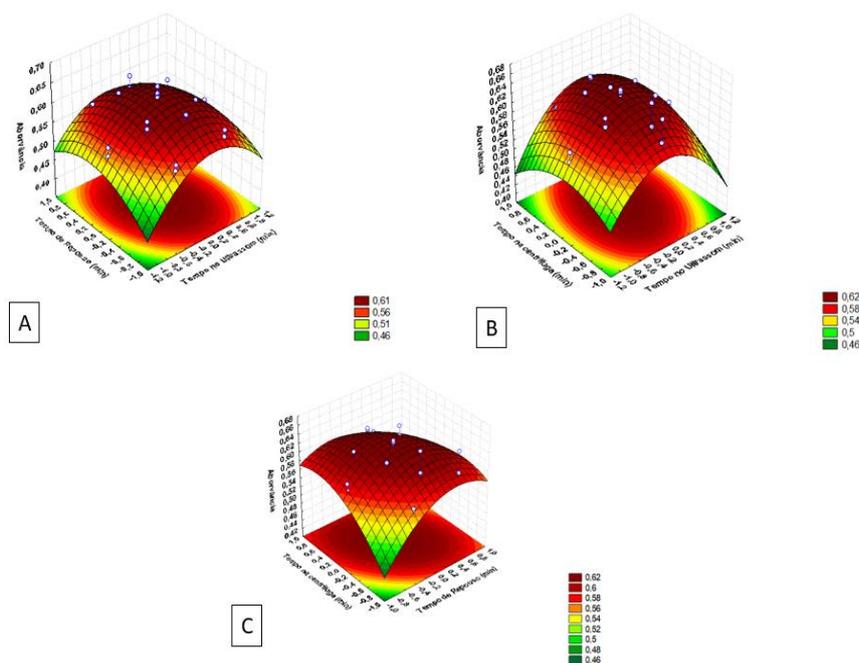


Com base nos resultados do planejamento fatorial completo, constatou-se a necessidade de uma otimização final para encontrar valores ótimos na região experimental estudada. Isso ocorre porque o planejamento fatorial completo e o planejamento fatorial fracionário geram equações de primeira ordem e, como consequência, não fornecem condições ótimas para as variáveis estudadas. Diante disso, empregou-se a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) utilizando a Matriz de Doehlert (MD) com o objetivo de obter o ponto ótimo desejado. Com os dados experimentais ajustados ao modelo quadrático, foi possível construir a superfície de resposta mostrada na Figura 2.

Os resultados obtidos foram processados pelo programa STATISTICA 7.0, e o valor ótimo foi caracterizado como um ponto de máximo para tempo de repouso, tempo no banho-maria, tempo na centrífuga e tempo no ultrassom, sendo 24,0; 9,0; 17,0 e 8 minutos,

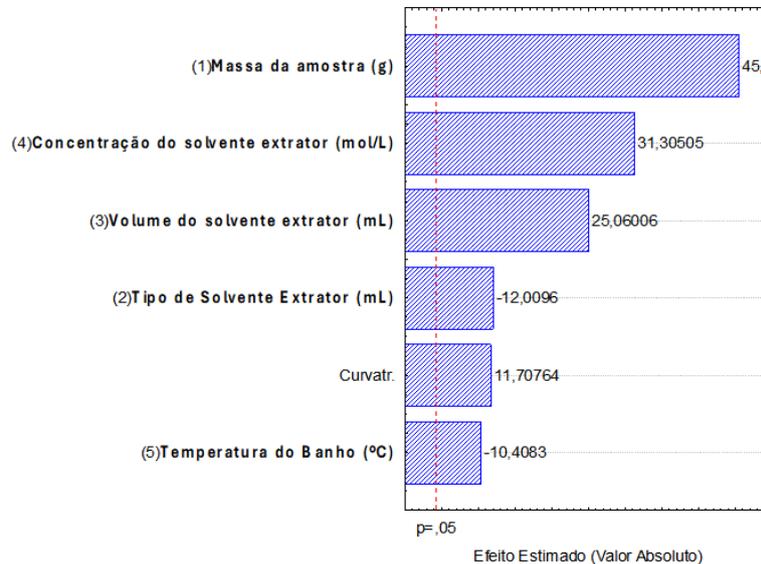
respectivamente. A Figura 2 apresenta a superfície de resposta obtida, revelando os pontos ótimos. As coordenadas desses pontos correspondem às proporções dos componentes que geram a maior resposta para a extração de fosfato em amostras de solo.

Figura 2: Superfície de resposta para a Matriz de Doehlert da relação entre: tempo de repouso e tempo no banho maria, 2A; tempo na centrífuga e tempo no ultrassom, 2B e tempo na centrífuga e tempo de repouso 2C.



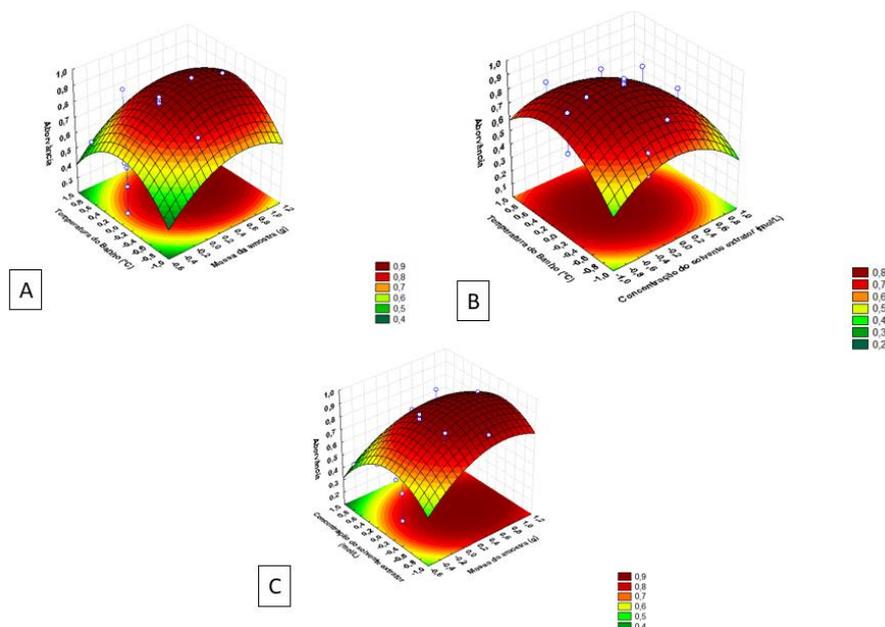
Para o estudo de outras variáveis, foi utilizado um planejamento experimental fracionário 2^{5-1} . As variáveis analisadas foram: massa da amostra, concentração do solvente extrator, volume do solvente extrator, tipo de solvente extrator e temperatura no banho-maria. O gráfico de Pareto (Figura 3) revela que todas essas variáveis tiveram um efeito significativo, afetando diretamente o sistema de extração de fosfato. A variável tipo de solvente extrator, por ser qualitativa, pôde ser otimizada apenas por meio do planejamento fatorial fracionário. Os resultados indicaram que o hidróxido de sódio foi o solvente mais eficiente na extração de fosfato das amostras de solo.

Figura 3: Gráfico de Pareto gerado do planejamento experimental fracionário.



A Figura 4 apresenta as superfícies de resposta, e os valores ótimos foram caracterizados como pontos de máximo para a massa da amostra, concentração do solvente extrator, volume do solvente extrator e temperatura do banho-maria, sendo 2,8 g; 0,3 mol/L; 14 mL e 43°C, respectivamente.

Figura 4: Superfície de resposta para a Matriz de Doehlert da relação entre: temperatura do banho maria e massa da amostra, 4A; temperatura do banho maria e concentração do solvente extrator, 4B e concentração do solvente extrator e massa da amostra 4C.





Conclusões

A otimização da extração de fosfato em solos foi alcançada através de um planejamento fatorial completo e planejamento fatorial fracionário, seguido por uma matriz de Doehlert. Os planejamentos fatoriais identificaram as variáveis significativas como tempo de repouso, tempo no ultrassom e tempo na centrífuga, enquanto o tempo no banho-maria, apesar de não significativo isoladamente, foi significativo entre interação com outra variável. A Matriz de Doehlert determinou as condições ótimas para a extração de fosfato como 2,8 g para a massa da amostra, 0,3 mol/L para a concentração do solvente extrator, 14 mL para o volume do solvente extrator e 43°C para a temperatura do banho-maria, 24 minutos para tempo de repouso, 9 minutos para tempo no banho-maria, 17 minutos para tempo na centrífuga e 8 minutos para tempo no ultrassom. O hidróxido de sódio (NaOH) foi o solvente extrator mais eficiente. A integração dessas abordagens experimentais permitiu encontrar as condições ideais, garantindo uma extração mais eficiente e oferecendo uma base sólida para futuras aplicações em solos agrícolas e ambientais.

Agradecimentos:

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e Universidade Federal da Bahia - Campus Anísio Teixeira.

Referências

- BABKO, A. K. and PILIPENKO, A. T. **Photometric Analysis: Methods of determining non-metals**. Moscow: Khimiya, 1974.
- BEZERRA, M. A.; FERREIRA, S.L.C.; NOVAES, C. G.; SANTOS, A. M. P.; VALASQUES, G.S.; MATA CERQUEIRA, U.M.F.; ALVES, J. P. dos S. Simultaneous optimization of multiple responses and its application in Analytical Chemistry – A review. **Talanta**. v. 194, p. 941-959, 2019.
- BOTKER, H. E., KIMOSE, H. H., HELLIGSO, P.; NIELSEN, Y. T. Analytical evaluation of high energy phosphate determination by high performance liquid chromatography in myocardial tissue. **J. Mol. Cell. Cardiol.** v. 26, p. 41-48, 1994.
- COLZANI, H. RODRIGUES, Q. E. A. G.; FOGAÇA, C. GELINSKI, J. M. L. N.; FILHO, E. R. P. e BORGES, E. M. Determinação de fosfato em refrigerantes utilizando um scanner de mesa e análise automatizada de dados: um exemplo didático para ensino de química. **Quim. Nova**, v. 40, n. 7, p. 833-839, 2017.



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 de Solo**. v. 25, p. 939-946, 2001.

GANESH, S.; KHAN, F.; AHMED, M. K.; VELAVENDAN, P.; PANDEY, N. K.; MUDALI, U. K. Spectrophotometric determination of trace amounts of phosphate in water and soil. **Water Science & Technology**. v. 66, n.12. p.2653-2658, 2012.

HABIBAH, N.; DHYANAPUTRI, I. G. A. S.; KARTA, I. W.; SUNDARI, C. D. W. H.; HADI, M. C. A Simple Spectrophotometric Method for the Quantitative Analysis of Phosphate in the Water Samples. **Jurnal Sains dan Teknologi**. v. 7, n. 2, p.198-204, 2018.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA . **Manual técnico da vegetação brasileira**. Rio de Janeiro: IBGE, p. 272, 2012

JI, Y.; LI, X.; WANG, Z., XIAO, W.; HE, Z.; XIONG, Z., ZHAO, L. Extraction optimization of accelerated solvent extraction for eight active compounds from Yaobitong capsule using response surface methodology: Comparison with ultrasonic and reflux extraction. **Journal Chromatography**, 2020.

MAHADEVAIAH, M. S., YOKENDRA, K., MANSOUR, S., ABDUL, G., SURESHA, M. S., SATHISH, M. A.; NAGENDRAPPA, G. A simple spectrophotometric determination of phosphate in sugarcane juices, water and detergent samples. **E. J. Chem.** 4, 467–473, 2007.

MORO, L.; CARNEIRO, K. de A. A.; MACEDO, R. S.; VENDRUSCOLO, J.; SARAIVA, S.

RUIZ-CALERO, V.; GALCERAN, M. T. Ion chromatographic separations of phosphorus species: a review. **Talanta**. v. 66, p. 376-410, 2005.

ROSSI, C.; dos ANJOS, A. R. M.; de CAMARGO, M. S.; WEBER, O. L. S.; IMHOFF, S.; MALAVOLTA, E. Efeito residual de fertilizantes fosfatados para o arroz: Avaliação do fósforo na planta e no solo por diferentes extratores. **Scientia Agricola**. v. 56, n.1, p. 39-46, 1999.

SILVA FILHO, G. N.; NARLOCH, C.; SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 37, n. 6, p. 847-854, 2022.

TAGLIAFERRE, C.; SANTOS, T. J.; SANTOS, L. C.; NETO, I. J. S.; ROCHA, F. A.; PAULA, A. Características agrônômicas do feijão caupi inoculado em função de lâminas de irrigação e de níveis de nitrogênio. **Revista Ceres**. v.60, n.2, p. 242-248, 2013.

VIAN, A. L.; GATELLI, A.; ENGEL, G. A. Boletim Agrônômico I. **Projeto Agro Extensão**. Porto Alegre, 2024.

YAQOOP, M.; NABI, A.; PAUL, J. W. Determination of nanomolar concentrations of phosphate in fresh waters using flow injection with luminal chemiluminescence detection. **Anal. Chimica Acta**. v. 510, p. 213-218, 2003.