

## USO DE CF-LIBS PARA QUANTIFICAÇÃO DE MACRO E MICRONUTRIENTES EM FOLHAS DE SOJA

BIANCA B. BARRETO<sup>1</sup>, LUÍS C. L. BORDUCHI<sup>2</sup>, DÉBORA M. B. P. MILORI<sup>3</sup>,  
PAULINO R. VILLAS-BOAS<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, bianca.barreto@colaborador.embrapa.br

<sup>2</sup> Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, luisleva@usp.br

<sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, debora.milori@embrapa.br

<sup>4</sup> Embrapa Instrumentação, paulino.villasboas@embrapa.br

Apresentado no  
LI Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA 2022  
27 a 29 de outubro de 2022 - Pelotas - RS, Brasil

**RESUMO:** A análise foliar é essencial para detectar deficiência nutricional ou para diagnosticar o ataque de pragas ou patógenos, minimizando assim a perda de produtividade. Entretanto, a análise em larga escala é inviável devido ao custo elevado por análise e a geração de resíduos químicos, como ocorre com a espectroscopia de absorção atômica (AAS). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da espectroscopia de emissão de plasma induzido por laser (LIBS) como uma alternativa rápida e sem gerar resíduos para análise elementar. Para minimizar os efeitos de matriz na análise com a LIBS, foi utilizado o modelo *calibration-free* LIBS (CF-LIBS) com correções do método *one-point calibration* (OPC). O primeiro se baseia na equação de Boltzmann para as emissões e no equilíbrio químico das espécies emissoras, atômicas e da primeira ionização, enquanto o segundo corrige as intensidades das emissões atômicas e iônicas. Neste trabalho, foram usadas 30 amostras de folhas de sojas coletadas em campo e preparadas no laboratório. O modelo desenvolvido permitiu a quantificação de macro (K, P, Ca, Mg) e micro (Zn e Mn) nutrientes com acurácia superior a 90% e coeficiente de determinação maior do que 0.82 em relação à AAS. Os resultados mostraram-se promissores, com análise rápida e menor custo quando comparadas às técnicas tradicionais.

**PALAVRAS-CHAVE:** LIBS, análise foliar, soja.

## USE OF CF-LIBS FOR THE QUANTIFICATION OF MACRO E MICRONUTRIENTS IN SOYBEAN LEAVES

**ABSTRACT:** Foliar analysis is essential to detect nutrient deficiency or to diagnose pest or pathogen attack, thus minimizing yield loss. However, large-scale analysis is unfeasible due to the high cost per analysis and the generation of chemical residues, as it is the case of atomic absorption spectroscopy (AAS). Thus, the objective of this work was to evaluate the use of laser induced breakdown spectroscopy (LIBS) as a fast and waste-free alternative for elemental analysis. To minimize matrix effects in LIBS analyses, the calibration-free LIBS (CF-LIBS) model was used with corrections of the one-point calibration (OPC) method. The former is based on the Boltzmann equation for emissions and the chemical equilibrium of the emitting atomic and first ionization species, while the latter corrects for atomic and ionic emission intensities. In this work, 30 soybean leaf samples collected in the field and prepared in the laboratory were used. The model developed allowed the quantification of macro (K, P, Ca, Mg) and micro (Zn and Mn) nutrients with accuracy higher than 90% and a determination

coefficient higher than 0.82 in relation to AAS. The results were promising, with fast analysis and lower cost when compared to traditional techniques.

**KEYWORDS:** LIBS, leaf nutritional analysis, soybean.

**INTRODUÇÃO:** A análise foliar é a técnica empregada para a avaliação nutricional das culturas, sendo essencial para a identificação de carências nutricionais podendo promover perdas significativas na produtividade da cultura. As técnicas mais usadas para análise foliar são: analisador elementar (CHN), espectroscopia de absorção atômica (AAS) e espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES). Apesar da sua importância, a análise foliar ainda é limitada pelo alto custo por análise e a geração de resíduos químicos. A espectroscopia de emissão de plasma induzido por laser (LIBS) (CREMERS; RADZIEMSKI, 2013) é uma técnica com grande potencial para análise foliar, por ser rápida, não gerar resíduos e com pouco ou nenhum preparo da amostra. Esta possui um arranjo experimental simples (Figura 1), composto por um ou dois lasers pulsados, espelhos, lentes, gerador de atraso, fibras e espectrômetro. Após o disparo do laser, o pulso é focalizado na superfície da amostra e gera um plasma (átomos, íons, elétrons e fótons em equilíbrio térmico com temperatura que pode passar de 50.000 K). Após o disparo do laser (*delay time*), a emissão do fundo diminui, permitindo assim a detecção das emissões atômicas e iônicas (ZOROV et al, 2015) por meio de uma fibra acoplada a um espectrômetro. O espectro LIBS permite identificar e quantificar os elementos presentes na amostra. Com a intensidade das emissões são construídos modelos, desde curvas de calibração e modelos multivariados (CREMERS; RADZIEMSKI, 2013) até *calibration-free* LIBS (CF-LIBS) (CIUCCI et al, 1999). Os primeiros assumem que a concentração dos elementos na amostra é proporcional à intensidade das suas linhas de emissão. CF-LIBS, por outro lado, se baseia na equação de Boltzmann para as emissões atômicas ou iônicas, na temperatura e proporção de emissores no plasma. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um modelo para quantificação de macro (K, P, Ca e Mg) e micronutrientes (Zn e Mn) em folhas de soja, usando CF-LIBS.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Trinta folhas de soja foram coletadas no campo e levadas para o laboratório, onde foram limpas e secas em estufa com temperatura de 30°C durante 72 horas. Após este processo, as amostras foram trituradas com o auxílio de nitrogênio líquido e peneiradas a 32 mesh. Posteriormente foi adicionado 0,5% de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) como padrão interno nas amostras e para facilitar os cálculos de temperatura e densidade de elétrons do plasma. Para coleta dos espectros das amostras, foi utilizado o sistema DP-LIBS (Figura 1), composto por um Q-switched laser de Nd:YAG laser (Quantel, Ultra) operando em 1064 nm, 20 Hz de taxa de repetição, 50 mJ de energia de pulso, 8 ns de duração de pulso e fluência de 510 Jcm<sup>-2</sup>; e um Q-switched laser de Nd:YAG laser (Quantel, Ultra) acoplado a um gerador de segundo harmônico operando em 532 nm, 180 mJ de energia de pulso máxima, 10 Hz de taxa de repetição, 4 ns de duração de pulso e fluência de 950 Jcm<sup>-2</sup>. O sistema DP-LIBS possui ainda um espectrômetro 400-Butterfly Aryelle com duas faixas espectrais de 175-330 e 280-760 nm com precisão de 13-24 pm, acoplado com uma câmera iCCD (*intensified charge-coupled device*) com resolução de 1024 × 1024 pixels. Os espectros LIBS foram processados usando o *software* R para remoção de *outliers*, correção da linha de base e cálculo das áreas das linhas de emissão. Os parâmetros das linhas de emissão foram obtidos a partir da base de dados do NIST (KRAMIDA et al., 2018).

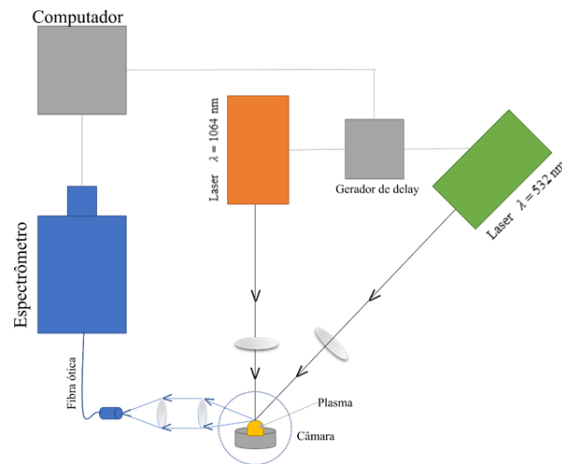


Figura 1: Esquema do sistema DP-LIBS usado neste trabalho.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Como o CF-LIBS é um modelo de quantificação baseado nos parâmetros físicos do plasma, como temperatura, densidade de elétrons e de emissores, não foi necessário a construção de curvas de calibração. Para a correção do cálculo de CF-LIBS foi utilizado o OPC, que se baseia na calibração das intensidades das linhas de emissão dos elementos de interesse através de concentrações obtidas por uma técnica de referência. Assim, foi realizada a calibração dos fatores de correção a partir de uma amostra de referência do conjunto, para posterior aplicação nas demais amostras.

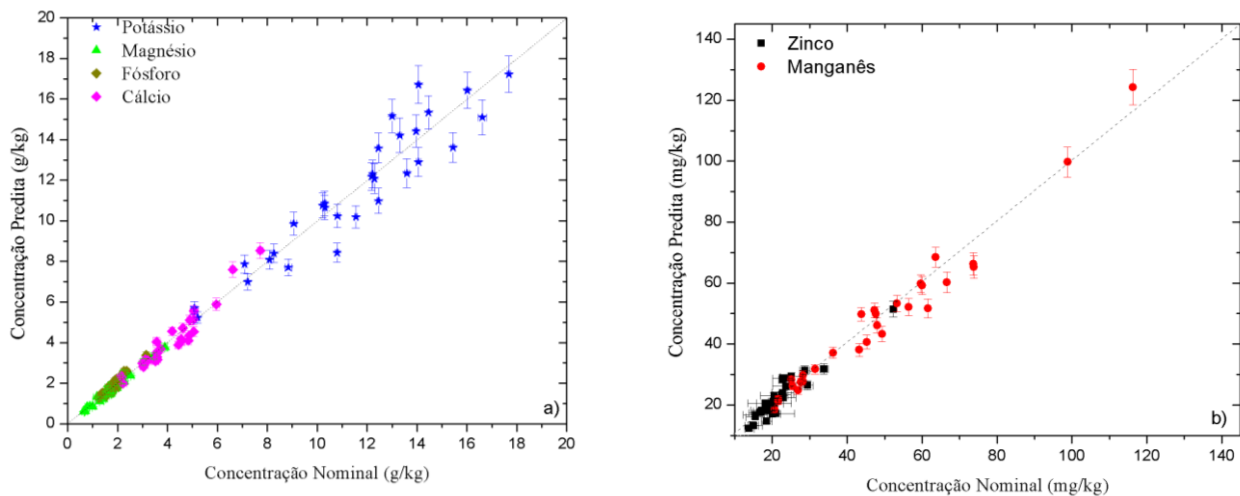


Figura 2: Validações do CF-LIBS em relação à AAS para macro (a) e micro (b) nutrientes. As barras de erro indicam a dispersão das predições

A validação do CF-LIBS em relação a técnica AAS, é apresentada na Figura 2, para os macro (a) e micro (b) nutrientes. Foi obtido uma acurácia  $\geq 90\%$  e um coeficiente de determinação  $\geq 0.82$  para todos os elementos analisados, Tabela 1. A alta acurácia na validação entre as duas técnicas, demonstra a robustez do modelo proposto em quantificar diferentes nutrientes pertinentes a cultura de soja. Os diferentes valores de  $r^2$  e acurácia, são devidos a sensibilidade de cada técnica e ao erro associado na medida, em especial ao AAS. Zinco, por exemplo, está na menor faixa de concentração, com isso, a sensibilidade da técnica provocará uma variação na replicadas da medida, ocasionando um erro maior.

Tabela 1: Valores de acurácia e  $r^2$  para os elementos analisados.

Elemento	$r^2$	Acurácia	Elemento	$r^2$	Acurácia
K	0.91	93	P	0.85	93
Mg	0.96	92	Zn	0.82	90
Ca	0.91	93	Mn	0.96	94

Apesar da técnica LIBS ser a anos estudado, poucos trabalhos foram realizados em folhas de soja. O resultado deste trabalho, é um indicativo que a técnica LIBS possa ser uma alternativa para análise foliar da soja, principalmente em larga escala, onde suas vantagens em relação as técnicas tradicionais, se sobressaem. E com o uso do CF-LIBS, tem-se a vantagem de realizar a quantificação de maneira independente, sem a necessidade de construção de curvas de calibração. E a adição de um padrão interno (TiO<sub>2</sub>), facilitou os cálculos dos modelos e não agrega no valor da medida, já que é um reagente de baixo custo. Este resultado mostrou o potencial da técnica LIBS em realizar a quantificação multi elementar em folhas de soja, possibilitando uma análise foliar de baixo custo, rápida e sem gerar resíduos químicos como a técnica AAS. Com poucas modificações, os resultados deste trabalho podem ser ampliados para outros nutrientes e culturas.

### CONCLUSÕES:

A técnica CF-LIBS tem grande potencial para quantificação de macro e micronutrientes em folhas de soja, pois apresentou uma acurácia superior a 90% e um coeficiente de determinação maior do 0.82 em relação à técnica AAS. Assim, CF-LIBS tem potencial para aplicação em larga escala e uso na agricultura de precisão. Testes com outras culturas e outros elementos são necessários para validar o modelo desenvolvido neste trabalho.

### AGRADECIMENTOS:

Este trabalho foi financiado por Embrapa instrumentação, CAPES, CNPq (grants 312775/2021-0, 40226/2021-0, 1133163/2021-0, 434380/2018-0, and 312647/2018-2) and FAPESP (grant 2013/07276-1 and 2017/19248-3)

### REFERÊNCIAS:

- L.C.L. Borduchi, D.M.B.P. Milori, P.R. Villas-Boas. One-point calibration of Saha-Boltzmann plot to improve accuracy and precision of quantitative analysis using laser-induced breakdown spectroscopy. **Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.** 160, 2019.
- A. Ciucci, M. Corsi, V. Palleschi, S. Rastelli, A. Salvetti, E. Tognoni, New Procedure for Quantitative Elemental Analysis by Laser-Induced Plasma Spectroscopy, *Appl. Spectrosc.* v. 53, p. 960–964, 1999.
- CREMERS, David A. e RADZIEMSKI, Leon J. Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. Oxford,UK: John Wiley & Sons Ltd, 2013.
- Kramida, A., Ralchenko, Yu., Reader, J. and NIST ASD Team. NIST Atomic Spectra Database (version 5.6.1). National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, 2018.
- Zorov, N. B., Popov, A. M., Zaytsev, S. M., & Labutin, T. A. Qualitative and quantitative analysis of environmental samples by laser-induced breakdown spectrometry. *Russian Chemical Reviews*, 84(10), 1021–1050, 2018.