



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
Instituto de Física “*Gleb Wataghin*”

TATIANA AMERICO DA SILVA

ANÁLISE DE SOLO COM UMA *LÍNGUA ELETRÔNICA*

CAMPINAS

2020

TATIANA AMERICO DA SILVA

ANÁLISE DE SOLO COM UMA *LÍNGUA ELETRÔNICA*

Dissertação apresentada ao Instituto de Física “*Gleb Wataghin*” da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Física, na área de Física Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Riul Jr

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação defendida pela aluna Tatiana Americo da Silva, e orientada pelo Prof. Dr. Antonio Riul Jr.

CAMPINAS

2020

**Agência de fomento e nº do processo: CAPES, 1734151/2017**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca do Instituto de Física Gleb Wataghin  
Lucimeire de Oliveira Silva da Rocha - CRB 8/9174

Si38a Silva, Tatiana Americo da, 1991-  
Análise de solo com uma *língua eletrônica* / Tatiana Americo da Silva. –  
Campinas, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Antonio Riul Júnior.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de  
Física Gleb Wataghin.

1. Língua eletrônica. 2. Solos - Análise. 3. Filmes finos. 4. Espectroscopia de  
impedância. I. Riul Júnior, Antonio, 1968-. II. Universidade Estadual de  
Campinas. Instituto de Física Gleb Wataghin. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Soil analysis with an *electronic tongue*

**Palavras-chave em inglês:**

Electronic tongue

Soils - Analysis

Thin films

Impedance spectroscopy

**Área de concentração:** Física Aplicada

**Titulação:** Mestra em Física

**Banca examinadora:**

Antonio Riul Júnior [Orientador]

Daniel Souza Corrêa

Alexandre Fontes da Fonseca

**Data de defesa:** 24-08-2020

**Programa de Pós-Graduação:** Física

**Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)**

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-0921-0894>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/8866901189822688>

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE TATIANA AMERICO DA SILVA – RA 104137 APRESENTADA E APROVADA AO INSTITUTO DE FÍSICA “GLEB WATAGHIN”, DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, EM 24 / 08 / 2020.

COMISSÃO JULGADORA:

- Prof. Dr. Antonio Riul Junior – Orientador – DFA/IFGW/UNICAMP
- Prof. Dr. Daniel Souza Corrêa - EMBRAPA
- Prof. Dr. Alexandre Fontes da Fonseca – DFA/IFGW/UNICAMP

**OBS.:** Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

CAMPINAS

2020

*Dedico este trabalho ao meu amor Wallace Yassaka Pereira*

# Agradecimentos

- Agradeço aos meus familiares e amigos por todo o apoio recebido
- Aos meus orientadores Prof. Dr. Antonio Riul Jr e Prof. Dr. Varlei Rodrigues pelo apoio, tempo, disposição e discussões sobre o trabalho
- Ao pessoal do grupo de pesquisa, em especial
  - À Dra. Maria Luisa Braunger pela ajuda na execução dos experimentos e discussões
  - Ao Doutorando Gabriel Gaál pela ajuda com a impressão e tratamento químico dos eletrodos
- À Dra. Anerise de Barros pela ajuda com o limite de detecção
- À Profa. Dra. Elidiane Cipriano Rangel, do laboratório de Plasmas Tecnológicos da Unesp de Sorocaba, pela colaboração com as medidas de MEV/EDS
- Ao apoio da Softex
- O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

## Resumo

Com o aumento da população mundial, há um crescimento da demanda por produção de alimento sem expandir as áreas cultiváveis. Nesse sentido, o uso de sensores na agricultura de precisão ajuda a otimizar a produção e o uso de insumos monitorando localmente os nutrientes das plantações dentro dos campos agrícolas. Neste trabalho, usamos uma *língua eletrônica* (*e-tongue*, do inglês *electronic tongue*) baseada em espectroscopia de impedância para reconhecer amostras de solo (arenoso e argiloso) distintas, enriquecidas com macronutrientes. O dispositivo consiste em um conjunto de quatro unidades sensoriais formadas por filmes fabricados por adsorção física (LbL, do inglês *Layer-by-Layer*) depositados sobre eletrodos interdigitados (IDEs, do inglês, *Interdigitated Electrodes*) fabricados via impressão 3D com um filamento comercial a base de grafeno. Os IDEs foram fabricados em 20 minutos usando o processo de modelagem por deposição fundida (FDM, do inglês *Fused Deposition Modeling*) e filamentos comerciais de ácido polilático (PLA, do inglês *Polylactic Acid*) à base de grafeno. A *língua eletrônica* é formada por um IDE sem filme e três IDEs recobertos com filmes LbL de poli(cloreto de dialildimetilamônio)/ftalocianina tetrassulfonada de cobre (PDDA/CuTsPc), PDDA/argila montmorilonita de potássio (MMt-K), e PDDA/poli(3,4-etilenodioxitiofeno)-poli(sulfonato de estireno) (PEDOT:PSS). Amostras controle de solos arenosos e argilosos foram enriquecidas com diferentes concentrações dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), e potássio (K). As 16 amostras de solo foram simplesmente dispersas em água na concentração de 1 mg/mL e medidas utilizando espectroscopia de impedância elétrica com 25 mV de amplitude na faixa de frequências de 1 - 10<sup>6</sup> Hz, cujos dados foram analisados por Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*) e Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), com as unidades sensoriais posteriormente analisadas por microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia de raios-X por dispersão em energia e por perfilometria. Todas as amostras foram facilmente distinguidas sem qualquer tipo de pré-tratamento, incluindo medidas realizadas em testes cegos, indicando a viabilidade de eletrodos impressos nas análises de *língua eletrônica* para diferenciar a fertilidade química de amostras de solo. Nossos resultados encorajam futuras investigações para o desenvolvimento de novas ferramentas para auxiliar a agricultura de precisão.

**Palavras-chave:** língua eletrônica; análise de solos; filme fino; espectroscopia de impedância

## Abstract

The increasing world population leads to a massive demand for food production without expanding cultivable areas. In this sense, the use of sensors in precision agriculture aids to optimize the crop production and use of supplies by locally monitor soil nutrients in agricultural fields. In this work, we use an *electronic tongue (e-tongue)* based on impedance spectroscopy to distinct soil samples (sandy and clayey) enriched with macronutrients. The device consists of a set of four sensing units formed by films formed by physical adsorption (LbL, Layer-by-Layer) deposited on interdigitated electrodes (IDEs). The IDEs were 3D-printed using a graphene-based polylactic acid (PLA) commercial filament, being manufactured in 20 minutes through the Fused Deposition Modeling (FDM). The *e-tongue* device is formed by a bare IDE and three others covered with LbL films of poly(diallyldimethylammonium chloride)/phthalocyanine tetrasulfonated copper (PDDA/CuTsPc), PDDA/potassium montmorillonite clay (MMt-K), and PDDA/poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-poly(styrene sulfonate) (PEDOT:PSS). Control samples of sandy and clayey soils were enriched with different concentrations of nitrogen (N), phosphorus (P), and potassium (K). Sixteen soil samples were simply dispersed in water at 1 mg/mL and measured using electrical impedance spectroscopy with 25 mV amplitude in the frequency range 1 - 10<sup>6</sup> Hz, whose data were analyzed by Hierarchical Cluster Analysis (HCA) and Principal Component Analysis (PCA), with the sensing units later analyzed by optical microscopy, scanning electron microscopy with X-ray spectroscopy by energy dispersion and perfilometry. All samples were easily distinguished without any kind of pre-treatment, including measurements performed in blind tests, indicating the viability of electrodes printed in *e-tongue* analysis to differentiate the chemical fertility of soils. Our results encourage further investigations into the development of new tools to support precision agriculture.

**Keywords:** electronic tongue; soil analysis; thin film; impedance spectroscopy

## Lista de ilustrações

- Figura 1. (a) Gráfico exibindo o aumento acentuado da produção de grãos nas últimas décadas e o baixo crescimento da área plantada e (b) gráfico mostrando o crescimento populacional nas últimas décadas e estimativa para as próximas. Imagens adaptadas respectivamente de [1] e [2] ..... 15
- Figura 2. (a) Foto da impressora 3D utilizada, (b) esquema do processo de fabricação do eletrodo interdigitado por FDM [36] e (c) foto de um eletrodo interdigitado (IDE) impresso e de um IDE de ouro fabricado por fotolitografia..... 20
- Figura 3. Gráfico da capacitância real em função da frequência para quatro IDEs em água destilada a 25 mV após a impressão 3D ..... 22
- Figura 4. Espectro da capacitância real em função da frequência de um eletrodo antes e após a esfoliação química e a limpeza dos IDEs, antes da deposição dos filmes LbL. Medidas obtidas por um analisador de impedâncias com 25 mV em água destilada ..... 23
- Figura 5. Ilustração do processo de crescimento de um filme LbL com a adsorção de multicamadas durante a fabricação dos filmes nanoestruturados. Figura adaptada de [41] ..... 24
- Figura 6. Eletrólitos e polieletrólitos utilizados na construção dos filmes ultrafinos nanoestruturados: (a) ftalocianina tetrassulfonada de cobre (CuTsPc), (b) argila montmorilonita de potássio (MMt-K), (c) poli(3,4-etilenodioxitiofeno)-poli(sulfonato de estireno) (PEDOT:PSS) e (d) poli(cloreto de dialildimetilamônio) (PDDA). Imagens adaptadas de [42,43]..... 25
- Figura 7. Espectros da capacitância pela frequência dos eletrodos depois da esfoliação química e antes da deposição dos filmes LbL (em preto), em comparação com medidas de impedância realizadas após o recobrimento com os filmes (em vermelho) para formação das unidades sensoriais de (a) PDDA/CuTsPc, (b) PDDA/MMt-K e (c) PDDA/PEDOT:PSS. Medidas obtidas em 25 mV e em água destilada..... 28
- Figura 8. (a) Zoom na unidade sensorial de PDDA/CuTsPc em um béquer com uma amostra de solo em dispersão aquosa e (b) montagem experimental usada para as análises de impedância da *língua eletrônica* ..... 32

- Figura 9. Espectros da capacitância real pela frequência para a unidade sensorial PDDA/PEDOT:PSS para uma medida de cada solo (a) arenoso e (b) argiloso, totalizando os 16 tipos de solo, em dispersão aquosa de 1mg/mL em água ultrapura utilizando um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude ..... 35
- Figura 10. Espectros de capacitância versus frequência para a amostra de solo arenoso A-222 medidos com as unidades sensoriais (a) IDE *bare*, (b) PDDA/CuTsPc, (c) PDDA/MMt-K e (d) PDDA/PEDOT:PSS, todas em dispersão aquosa de 1 mg/mL em água ultrapura utilizando um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude ..... 36
- Figura 11. Espectros de capacitância versus frequência para a amostra de solo argiloso A-222 medidos com as unidades sensoriais (a) IDE *bare*, (b) PDDA/CuTsPc, (c) PDDA/MMt-K e (d) PDDA/PEDOT:PSS, todas em dispersão aquosa de 1 mg/mL em água ultrapura utilizando um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude ..... 37
- Figura 12. Espectros da capacitância em função da frequência em água destilada antes e após as medidas em triplicata dos solos A-002 (maior concentração de potássio), A-020 (maior concentração de fósforo) e A-200 (maior concentração de nitrogênio), todos argilosos, utilizando as unidades sensoriais (a) IDE *bare*, (b) PDDA/CuTsPc, (c) PDDA/MMt-K e (d) PDDA/PEDOT:PSS, todos utilizando um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude ..... 38
- Figura 13. (a) Dendograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises dos solos arenosos diluídos em água ultrapura em 1 mg/mL, (b) zoom no dendograma para melhor visualização do agrupamento das amostras e (c) PCA em 1 kHz dessas mesmas medidas das amostras de solo arenoso, obtidas com um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude ..... 39
- Figura 14. Gráfico de PCA tridimensional em 1 kHz das amostras de solo arenoso, obtidas com um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude ..... 40
- Figura 15. (a) Dendograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises dos solos argilosos diluídos em água ultrapura em 1 mg/mL, (b) zoom no dendograma para melhor visualização do agrupamento das amostras e (c) PCA, também em 1 kHz, das

amostras de solo argiloso, obtidas com um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude.....	41
Figura 16. PCAs obtidos em 1 kHz dos solos argilosos. (a) Resultados adquiridos em 2017, com outra pesquisadora, mas utilizando o mesmo procedimento e (b) resultados obtidos por nós, em 2019.....	43
Figura 17. (a) Dendograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises das amostras de solo com baixa concentração de macronutrientes, em dispersão aquosa de 1 mg/mL, (b) zoom no dendograma para melhor visualização do agrupamento das amostras e (c) PCA, também em 1 kHz, das amostras de solo com baixa concentração.....	44
Figura 18. (a) Dendograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises das amostras de solo com alta concentração de macronutrientes, em dispersão aquosa de 1 mg/mL, (b) zoom no dendograma para melhor visualização do agrupamento das amostras, (c) PCA, também em 1 kHz, das amostras de solo com alta concentração e (d) zoom no PCA para melhor visualização do aglomerado de duas amostras distintas.....	45
Figura 19. Dendograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises de todas as amostras de solo, em dispersão aquosa de 1 mg/mL e (b) zoom no dendograma para melhor visualização do agrupamento das amostras.....	47
Figura 20. (a) PCA obtido para a capacitância em 1 kHz das análises de todas as amostras de solo, em dispersão aquosa de 1 mg/mL e (b) zoom no PCA para melhor visualização do aglomerado de duas amostras distintas.....	48
Figura 21. (a) Dendograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises das amostras de solo do teste cego, em dispersão aquosa de 1 mg/mL e (b) PCA, também em 1 kHz, dessas mesmas amostras de solo.....	49
Figura 22. (a) Gráfico PCA das amostras com alta concentração de macronutrientes para os dois tipos de solos e (b) <i>loading plot</i> desse mesmo PCA.....	50
Figura 23. Dados da capacitância obtidos em 1 kHz em amostras de solo com alto teor de potássio (A-002) dispersas em água de 0,1 a 1,0 mg/mL, (a) para a unidade sensorial IDE <i>bare</i> de amostras de solo argiloso e (b) para a unidade sensorial PDDA/PEDOT:PSS de amostras de solo arenoso.....	51
Figura 24. Análise por microscopia óptica das quatro unidades sensoriais: (a) e (b) IDE <i>bare</i> , (c) PDDA/CuTsPc, (d) PDDA/MMt-K e (e) PDDA/PEDOT:PSS.....	54

Figura 25. Análise por microscopia óptica da unidade sensorial PDDA/CuTsPc, ampliada em 2,5x .....	56
Figura 26. Imagens de MEV das quatro unidades sensoriais (a) IDE <i>bare</i> , (b) PDDA/CuTsPc, (c) PDDA/MMt-K e (d) PDDA/PEDOT:PSS em 80x de magnificação .....	58
Figura 27. Imagens de MEV das quatro unidades sensoriais (a) IDE <i>bare</i> , (b) PDDA/CuTsPc, (c) PDDA/MMt-K e (d) PDDA/PEDOT:PSS em 500x .....	59
Figura 28. Análise EDS da (a) base do IDE <i>bare</i> , (b) eletrodo do IDE <i>bare</i> , (c) base da PDDA/CuTsPc, (d) eletrodo com PDDA/CuTsPc, (e) base do PDDA/MMt-K, (f) eletrodo com PDDA/MMt-K, (g) base do PDDA/PEDOT:PSS e (h) eletrodo com PDDA/PEDOT:PSS .....	60

## Lista de tabelas

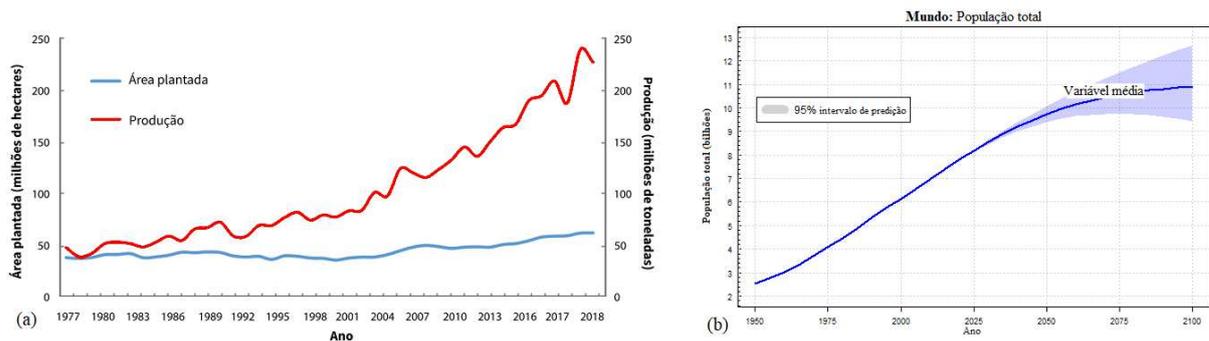
- Tabela 1. Composição dos solos arenosos e argilosos quanto à disponibilidade de N, P e K, de acordo com análises químicas tradicionais. As unidades de medida são  $\text{g.kg}^{-1}$ ,  $\text{mg.dm}^{-3}$  e  $\text{mmolc.dm}^{-3}$  para N, P e K, respectivamente..... 29
- Tabela 2. Composição dos solos adquiridos para o teste cego, de acordo com análises químicas tradicionais. CTC: capacidade de troca de cátions. Saturação: correspondente à umidade do solo..... 31
- Tabela 3. Sensibilidade e limite de detecção (LD) para as unidades sensoriais IDE *bare* e PDDA/PEDOT:PSS durante as análises de solo. O conteúdo desta tabela corresponde aos dados de espectroscopia de impedância elétrica para amostras de solos arenosos e argilosos controle (A-000) e enriquecidas com a maior quantidade de potássio (A-002) ..... 52
- Tabela 4. Valores da rugosidade média dos eletrodos em cada dígito, diferença entre maior e menor valor, e média da rugosidade média dos seis dígitos para cada unidade sensorial..... 56

# Sumário

<b>Agradecimentos</b> .....	6
<b>Resumo</b> .....	7
<b>Abstract</b> .....	8
<b>Lista de ilustrações</b> .....	9
<b>Lista de tabelas</b> .....	13
<b>1. Introdução</b> .....	15
<b>2. Materiais e Métodos</b> .....	18
2.1. <i>Língua eletrônica</i> .....	18
2.2. Construção de uma <i>língua eletrônica</i> .....	19
2.3. Aplicação da <i>língua eletrônica</i> na análise de solos .....	28
2.3.1. Amostras de solo .....	28
2.3.2. Espectroscopia de impedância .....	31
2.3.3. Limite de detecção .....	33
2.3.4. Outras caracterizações.....	34
<b>3. Resultados e Discussões</b> .....	34
3.1. Medidas elétricas .....	34
3.2. Análise por métodos estatísticos.....	38
3.3. Limite de detecção .....	50
3.4. Microscopia óptica e perfilometria para identificar contaminação cruzada .....	53
3.5. Microscopia eletrônica para identificar contaminação cruzada.....	57
<b>4. Conclusões</b> .....	62
<b>Referências</b> .....	63

# 1. Introdução

A crescente demanda por alimentos com o aumento populacional em escala global traz o desafio do avanço de produção sem ampliar áreas de cultivo, como ilustrado na Figura 1. Neste contexto, a agricultura de precisão surgiu como alternativa a este problema, sendo de extrema importância para o Brasil, pois o agronegócio garante 24% do PIB nacional [1].



**Figura 1.** (a) Gráfico exibindo o aumento acentuado da produção de grãos nas últimas décadas e o baixo crescimento da área plantada e (b) gráfico mostrando o crescimento populacional nas últimas décadas e estimativa para as próximas. Imagens adaptadas respectivamente de [1] e [2].

Podemos observar na Figura 1a um aumento significativo da produção de grãos no Brasil nos últimos 40 anos, enquanto a área plantada permaneceu praticamente constante. Alguns dos fatores para esse aumento na produtividade, que permitiu que o Brasil passasse de importador na década de 70 para um exportador de alimentos na atualidade, foram políticas públicas específicas em pesquisa e desenvolvimento, que trouxeram avanços nas ciências, tecnologias adequadas e inovações, extensão rural, crédito farto, controle de inflação e taxas de câmbio mais realistas, facilitando a atuação dos produtores com postura empreendedora, investimentos em terra, equipamentos, gestão, trabalho e maiores conhecimentos [1,3,4]. As pesquisas realizadas pela Embrapa, universidades, instituições estaduais de pesquisa agropecuária e a iniciativa privada, junto com extensão rural, políticas públicas e empreendedorismo, trouxeram técnicas de melhoramento genético, otimização do uso de corretivos e fertilizantes, plantio direto, zoneamento de riscos climáticos, manejo de pragas e plantas daninhas, mecanização, sucessão de até três cultivos anuais na mesma área, etc. [1,3,4]. Esse avanço brasileiro está vinculado ao crescimento populacional mundial, ilustrado na Figura 1b, que reforça a estimativa do aumento da demanda mundial por alimentos, no qual o Brasil

tem um papel de destaque com uma parcela significativa na exportação de alimentos para os próximos anos [1,4].

Para garantir uma fertilização eficiente, há a necessidade de uma caracterização prévia do solo para mapeamento das áreas deficientes em determinados macronutrientes. No entanto, na maioria dos casos usa-se grandes quantidades de fertilizantes e defensivos agrícolas para aumentar a produção de alimentos [4], contaminando o solo em longo prazo, além do aumento de custos envolvidos (milhões de reais gastos desnecessariamente com fertilizantes e agrotóxicos). Nas caracterizações padrões do solo são feitas análises químicas para conhecimento dos macronutrientes e suas proporções. Geralmente, são usados métodos distintos dependendo do tipo de nutriente que estão avaliando, como espectrofotometria de absorção atômica para Ca e Mg [5], extração com resina trocadora de íons para P e K [6], além de um método complexo para detecção do nitrogênio total usando um bloco digestor e destilador de Kjeldahl a vapor [5], com a utilização de vários reagentes químicos em todas essas análises. Há também o uso de outros métodos como espectroscopia óptica, fluorescência de raios-X, difratometria de raios-X, etc. [7], sendo algumas técnicas demoradas e caras, deixando o agronegócio ávido por sensores ou metodologias alternativas. Nossa proposta é testar uma nova metodologia mais simples e barata que as convencionais para diferenciação de solos, através de uma *língua eletrônica* [8]. Neste sentido, nosso trabalho abre espaço para desenvolvimentos importantes relacionados à agricultura de precisão, pois esse tipo de sensoriamento poderá auxiliar futuramente em tomadas de decisão rápida para entrega específica de pesticidas e fertilizantes em regiões com deficiência de macronutrientes.

Uma *língua eletrônica* é um sistema multissensorial que utiliza procedimentos matemáticos avançados para a caracterização de líquidos complexos [9]. Brevemente, o dispositivo é formado por um conjunto de unidades sensoriais não-específicas que acabam formando uma “impressão digital” para cada solução analisada [10]. Desta forma, podemos analisar líquidos diferentes e obter um conjunto de resposta único através do padrão de resposta formado para cada amostra, e a simplicidade desta metodologia tem estendido o uso deste sensoriamento em diversas áreas [8,11]. Entretanto, existem poucos trabalhos na literatura voltados para agricultura de precisão utilizando *língua eletrônica* para análise de solos. Resumidamente, Braunger *et al.* aplicaram uma *língua eletrônica* microfluídica baseada em espectroscopia de impedância para discriminar amostras de solo enriquecidas com os macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S [12], simplesmente diluindo as amostras em água. Mimendia *et al.* utilizaram eletrodos seletivos a íons (ISEs, do inglês *Ion-Selective Electrodes*)

com uma ampla variedade de membranas de policloreto de vinila (PVC, do inglês *Polyvinyl Chloride*) preparadas em laboratório formando uma *e-tongue* potenciométrica para distinguir seis tipos de solo com diferentes propriedades físico/químicas utilizando redes neurais artificiais (ANNs, do inglês *Artificial Neural Networks*) [13].

Neste trabalho, utilizamos uma *língua eletrônica* baseada em medidas de impedância e filmes ultrafinos como unidades sensoriais, que foram depositados sobre eletrodos interdigitados (IDEs, do inglês *Interdigitated Electrodes*) fabricados por impressão 3D. Utilizamos a técnica de automontagem por adsorção física (LbL, do inglês *Layer-by-Layer*) [14] para nanoestruturação dos materiais [15], depositando os filmes LbL sobre a superfície dos IDEs impressos em uma única etapa de processamento via modelagem por deposição fundida (FDM, do inglês *Fused Deposition Modeling*), explicado mais adiante. A ideia principal foi buscar uma alternativa simples, mais robusta e barata que as tecnologias convencionais geralmente utilizam na fabricação das unidades sensoriais de uma *língua eletrônica*. Nossa *e-tongue* foi formada por quatro unidades sensoriais, utilizando uma impressora 3D totalmente construída em nosso grupo de pesquisa para impressão dos IDEs, em colaboração com o Prof. Varlei Rodrigues do IFGW (Instituto de Física “Gleb Wataghin”) – UNICAMP. Três desses eletrodos impressos foram recobertos com filmes LbL, sendo um deles mantido sem recobrimento para comparações futuras. Os materiais utilizados para formação dos filmes LbL foram escolhidos de trabalhos anteriores realizados em nosso grupo de pesquisa. Basicamente, o critério de seleção foi feito pelas características elétricas distintas entre eles, de maneira a favorecer a formação da “impressão digital” dos líquidos analisados [10]. As amostras de solo foram fornecidas pelo professor Lucas Rios do Amaral, da FEAGRI (Faculdade de Engenharia Agrícola) – UNICAMP, com a distinção dos solos feita neste trabalho através de Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*) [16] e Análise por Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) [16–18]. Também foram feitas microscopias óptica e eletrônica nas unidades sensoriais para identificação de possível contaminação cruzada, e perfilometria para observação da rugosidade dos IDEs com os filmes.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. *Língua eletrônica*

Como definido anteriormente, uma *língua eletrônica* é um sensor que capta informações contidas em sistemas líquidos através de um sinal elétrico que pode ser analiticamente analisado [19]. É composto por um conjunto de unidades sensoriais com baixa seletividade, tentando imitar o sistema biológico, onde sinais são processados por métodos estatísticos ou computacionais que auxiliam na identificação de padrões [10]. Dependendo da complexidade do sistema, podem ser métodos supervisionados como ANNs, ou não supervisionados como o PCA. Ambos os métodos supervisionados e não supervisionados se baseiam no fato de que amostras do mesmo tipo são semelhantes, que existem diferenças significativas entre os diferentes tipos de amostras e que o conjunto de medidas realizadas é capaz de detectar essas semelhanças e diferenças [16]. Nos métodos supervisionados cada amostra analisada é alocada em uma classe pré-estabelecida, e essa informação é utilizada durante a análise dos dados e na construção dos modelos de classificação; já nos modelos não supervisionados, não é feito uso dessa informação [16]. O sistema biológico não é capaz de identificar todas as substâncias existentes nos diferentes paladares que sentimos, mas consegue transformar uma grande quantidade de informação gerada pelas papilas gustativas em padrões de resposta que são facilmente interpretados pelo cérebro como doce, azedo, salgado, amargo e umami. Essa habilidade única de organizar grandes quantidades de dados sem a necessidade de reconhecimento específico nas papilas é conhecida como seletividade global [20].

A seletividade global é o conceito explorado em *línguas eletrônicas*, e nós aplicamos esse conceito através de um conjunto de unidades sensoriais formado por eletrodos idênticos sobre os quais são depositados materiais com composições químicas distintas. A ideia é transformar a diferença de resposta entre as unidades sensoriais em uma “impressão digital” da amostra. Desta forma, a informação pode ser processada utilizando técnicas estatísticas e computacionais para a identificação de padrões nas amostras analisadas. Na literatura existe uma infinidade de aplicações com *línguas eletrônicas*, não só para alimentos e bebidas, mas também para fármacos, solos, detecção de poluentes e pesticidas [12,13,21–33].

Existem vários tipos de *língua eletrônica* na literatura, dependendo do tipo de medida realizada [8,11,34,35], sendo a maioria baseada em medidas eletroquímicas (medidas que podem ser efetuadas sob condições de equilíbrio – corrente nula – com sensores

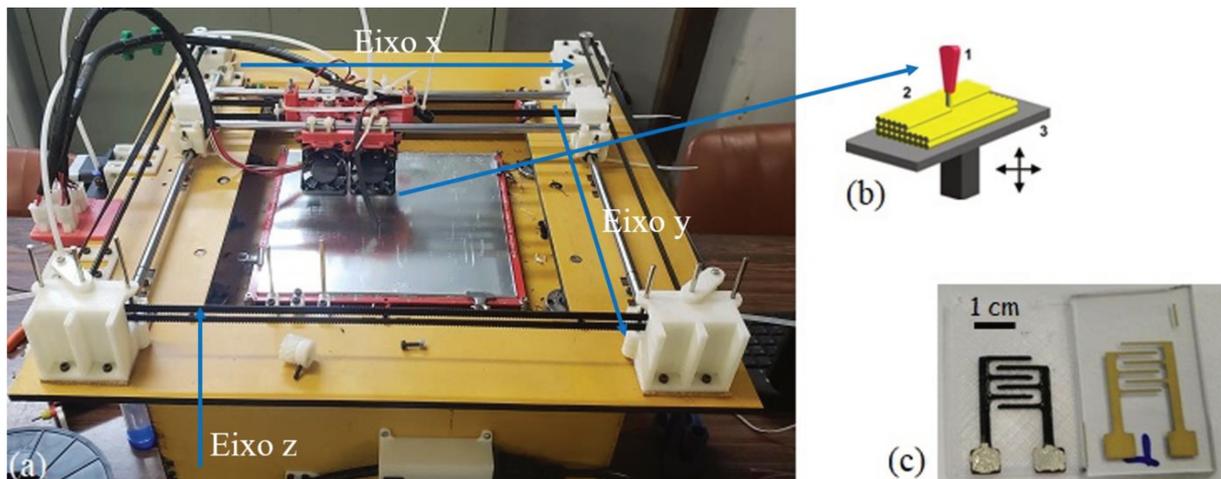
potenciométricos, no caso da potenciometria, ou fora do equilíbrio – com passagem de corrente – com sensores amperométricos ou voltamétricos, no caso da amperometria e da voltametria respectivamente). O sistema que usamos é impedimétrico e nossa motivação tem sido o fato de a espectroscopia de impedância ser tão sensível quanto os métodos eletroquímicos, mas com as vantagens de não precisar de um eletrodo de referência e os materiais que formam as unidades sensoriais não precisarem ser eletroativos. Além disso, o tamanho do eletrodo de referência pode vir a ser problemático em miniaturizações e rearranjos experimentais.

Neste trabalho, adaptamos uma *língua eletrônica* para a análise de solos enriquecidos com diferentes macronutrientes, como uma prova de conceito para verificar a eficiência na distinção destas amostras complexas (solos). Este é o primeiro passo para a criação de uma ferramenta alternativa para análise rápida, eficiente e com custo reduzido na análise de solos, em comparação às análises tradicionais.

## **2.2. Construção de uma *língua eletrônica***

Os eletrodos interdigitados que formam as unidades sensoriais da *língua eletrônica* foram impressos em uma impressora 3D caseira CoreXY de dois bicos injetores, construída com base no hardware aberto RepRap em nosso grupo de pesquisa pelo aluno de mestrado Vladimir Gaál, em colaboração com o Prof. Varlei Rodrigues (IFGW, UNICAMP) [36]. As impressoras 3D mais comuns têm apenas uma extrusora, e os eletrodos poderiam ser fabricados sem problemas nelas, mas aumentando o número de extrusoras (duas no nosso caso), diminuimos a necessidade de intervenção humana durante o processo, além de reduzirmos o tempo na fabricação. Essa impressora utiliza a tecnologia de FDM com um filamento condutor biocompatível e biodegradável à base de ácido polilático (PLA, do inglês *Polylactic Acid*). A impressão por FDM é uma técnica de manufatura aditiva, na qual um termoplástico derretido é depositado sequencialmente camada a camada [37]. A foto da impressora utilizada e do processo de FDM podem ser vistos nas Figuras 2a e 2b, respectivamente. O filamento condutor usado foi um termoplástico comercial à base de PLA dopado com fibras de grafeno adquirido da *BlackMagic 3D (Graphene Supermarket, Ronkonkoma, NY, EUA)*. A parte do substrato dos IDEs também é de um termoplástico comercial à base de PLA, usado por ser do mesmo material do filamento condutor, além de ser biodegradável [38]. Os IDEs planares consistem nas extrusoras derreterem o PLA (uma delas o transparente e a outra o dopado com grafeno) e aplicá-los camada a camada, com motores controlando os movimentos das extrusoras nos eixos x e y e com uma mesa controlada por motores que a move até a altura desejada z, conforme a

foto da Figura 2a. Os IDEs foram projetados com 3 pares de dígitos com 9 mm de comprimento, 1 mm de largura e 1 mm de espaçamento entre si, como pode ser observado na Figura 2c, e comparado com um IDE de ouro fabricado por fotolitografia, exibido ao lado. Como ambos materiais de PLA estão derretidos, aderem um ao outro sem a necessidade de um agente intermediário.



**Figura 2.** (a) Foto da impressora 3D utilizada, (b) esquema do processo de fabricação do eletrodo interdigitado por FDM [36] e (c) foto de um eletrodo interdigitado (IDE) impresso e de um IDE de ouro fabricado por fotolitografia.

Na Figura 2c temos à esquerda um IDE impresso na impressora 3D, onde a região transparente que forma a base do substrato do eletrodo é o PLA, e a região preta é a parte condutora formada por PLA com grafeno. Passamos tinta prata nas regiões dos IDEs que serão conectadas aos equipamentos de medida para proteção daquela área e otimização do contato elétrico.

Normalmente, eletrodos interdigitados são baseados em técnicas de microfabricação envolvendo fotolitografia, tendo como características:

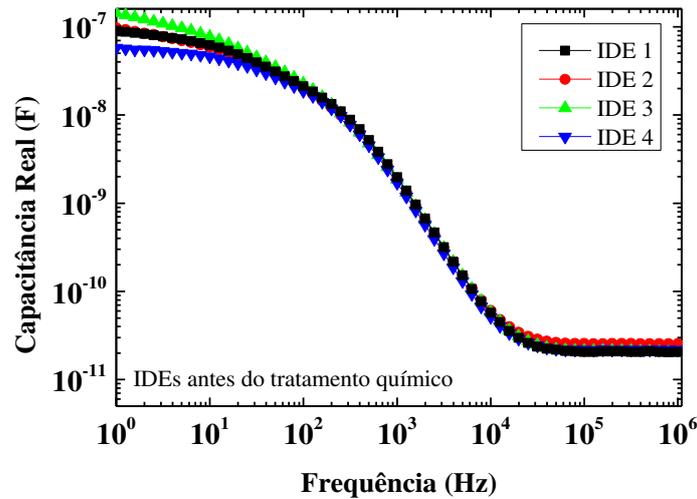
- Desenvolvimento das estruturas com resolução micrométrica;
- Produção em larga escala das peças, mas envolvendo muitas horas de fabricação;
- Um substrato muito utilizado para os IDEs é o vidro, o que o torna frágil particularmente ao nosso caso, se considerarmos que a proposta é poder levar o dispositivo ao campo e deixá-lo ser manuseado por qualquer pessoa;

- O interdigitado é feito de ouro, que se for contaminado precisará ser descartado, aumentando os custos de produção;
- É necessária a utilização de sala limpa, necessitando também de mão de obra especializada e a geração de resíduos químicos;
- Toda a construção do IDE envolve várias etapas de processamento.

Em contrapartida, com os IDEs impressos temos como características:

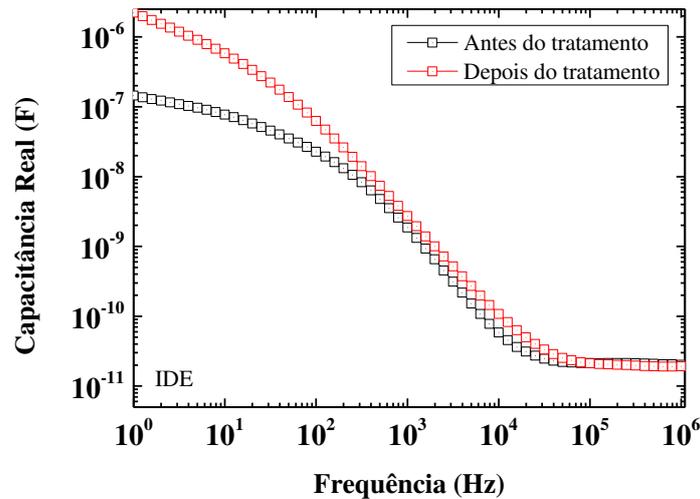
- Opção de vários materiais tanto para o substrato quanto para as trilhas condutoras que formam os IDEs;
- Os sensores são mais robustos (menos frágeis) e personalizáveis (podemos adequar os modelos dos dispositivos dependendo da demanda exigida, sem a necessidade de fotomáscaras);
- Por utilizar apenas uma impressora 3D, não depende de sala limpa, mas possui limitação de resolução ( $\sim 500 \mu\text{m}$ ) devido aos bicos injetores utilizados;
- Todo o processo é feito em uma única etapa;
- É um processo bem mais barato que a fotolitografia, tanto em custo de mão de obra, quanto de energia, equipamentos e materiais;
- Leva apenas alguns minutos para os eletrodos serem impressos.

Portanto, fizemos a impressão de quatro IDEs utilizando PLA transparente e PLA com grafeno. Depois de impressos, constatamos através de medidas de impedância em água destilada que todos os quatro eletrodos apresentaram resposta elétrica muito semelhante, como observado na Figura 3.



**Figura 3.** Gráfico da capacitância real em função da frequência para quatro IDEs em água destilada a 25 mV após a impressão 3D.

Posteriormente, fizemos esfoliação química na superfície dos IDEs (comentado mais a frente), um processo de limpeza para remoção de resíduos na superfície dos IDEs, e em seguida a deposição dos filmes LbL sobre os eletrodos. A esfoliação química da superfície consiste em deixar os IDEs em uma mistura de 194 mg de permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ), com 50 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 1 M durante 3 horas no ultrassom [39]. O permanganato de potássio em meio ácido separa folhas de grafite durante sua oxidação, e isso facilita a adsorção de outras espécies químicas na superfície do IDE (no nosso caso, filmes LbL). Posteriormente, os IDEs são lavados com 1 L de água ultrapura e solução de 25% de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1M e 75% de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , para só então depositarmos os filmes LbL. Foi realizada espectroscopia de impedância em água antes e após o tratamento químico (esfoliação e limpeza) para verificação da mudança da curva da capacitância pela frequência, resultado da mudança na superfície do eletrodo de PLA dopado com fibras de grafeno, e ilustrada na Figura 4.

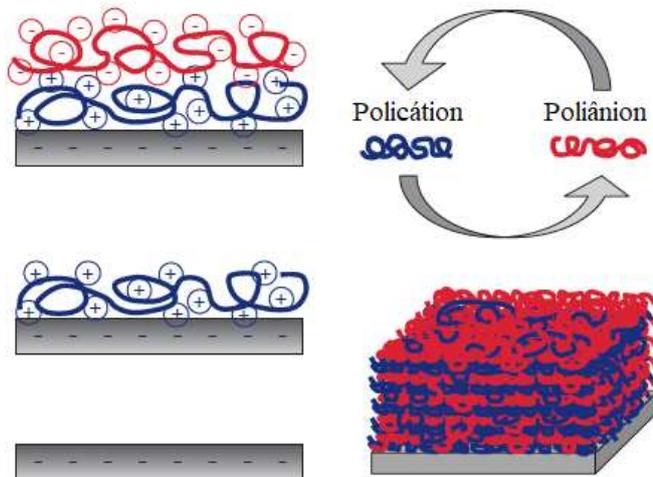


**Figura 4.** Espectro da capacitância real em função da frequência de um eletrodo antes e após a esfoliação química e a limpeza dos IDEs, antes da deposição dos filmes LbL. Medidas obtidas por um analisador de impedâncias com 25 mV em água destilada.

Também foi feito um estudo prévio pelo doutorando Gabriel Gaál na sua dissertação sobre as mudanças que esse tratamento químico provoca nos IDEs. Resumidamente, a espectroscopia Raman constatou a presença de folhas de grafeno na região condutora, apresentando os três modos vibracionais característicos dos derivados de grafite, sem alterações na razão entre as intensidades da banda D e G antes e após a esfoliação, concluindo que a alteração na superfície foi mascarada pelo sinal do material intacto no interior [37]. Já o XPS comparativo entre antes e após a esfoliação química confirmou a mudança na superfície causada pela esfoliação com permanganato de potássio, que aderiu um pouco na superfície do eletrodo (mesmo com a limpeza com peróxido de hidrogênio o permanganato não é totalmente removido) e também pelo efeito oxidativo do permanganato, que interfere na formação da dupla camada elétrica (que ocorre a baixas frequências) abrindo algumas ligações, causando o surgimento de novas bordas nas folhas, observadas como um aumento do grupo dos hidrocarbonetos [37]. Portanto, tal mudança na superfície é observada como a diferença entre a curva vermelha e preta no gráfico da Figura 4, referente aos valores de capacitância.

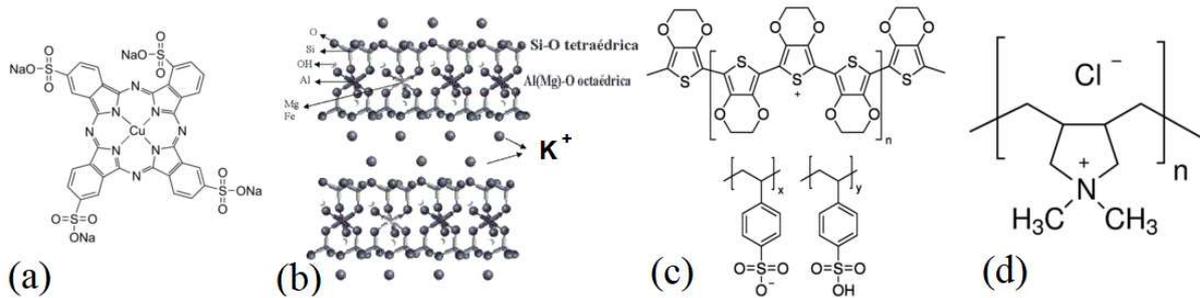
A nanoestruturação de filmes sobre os IDEs foi obtida por meio da técnica LbL, que foi escolhida devido a simplicidade na modificação da superfície de substratos em nanoescala, utilizando interações intermoleculares não covalentes de polieletrólitos de cargas opostas. Brevemente, a técnica LbL consiste na adsorção espontânea de materiais sobre uma superfície, sem necessidade de o substrato ter geometrias específicas para que a deposição ocorra. É

necessário que um equilíbrio termodinâmico de forças intermoleculares (Coulombiana, ligação de hidrogênio, van der Waals e interações entre cargas e dipolos) aconteça para que ocorra a adsorção espontânea de materiais [14,15,40]. É um processo que ocorre de forma natural em diversos sistemas biológicos, mas apenas na década de 1990 houve o desenvolvimento de uma metodologia que permitisse isso de maneira controlada, feito por Gero Decher e colaboradores [40], conforme ilustrado na Figura 5.



**Figura 5.** Ilustração do processo de crescimento de um filme LbL com a adsorção de multicamadas durante a fabricação dos filmes nanoestruturados. Figura adaptada de [41].

Resumidamente, a técnica LbL consiste na imersão por um período de tempo específico, de um substrato sólido em uma solução aquosa contendo o material a ser adsorvido, formando uma monocamada. Posteriormente, o substrato é imerso em um béquer com água para remover o material fracamente adsorvido (processo de lavagem), para que este não comprometa adsorções futuras. É deixado para secar naturalmente e, em seguida, imerso em outra solução contendo material de carga oposta ao do material inicialmente adsorvido, favorecendo a formação de uma primeira bicamada. Com a repetição do processo de lavagem, essa sequência de adsorção pode ser repetida quantas vezes se desejar, permitindo o controle de espessura em nível molecular de filmes nanoestruturados, como ilustrado na Figura 5.



**Figura 6.** Eletrólitos e polieletrólitos utilizados na construção dos filmes ultrafinos nanoestruturados: **(a)** ftalocianina tetrassulfonada de cobre (CuTsPc), **(b)** argila montmorilonita de potássio (MMt-K), **(c)** poli(3,4-etilenodioxítiofeno)-poli(sulfonato de estireno) (PEDOT:PSS) e **(d)** poli(cloreto de dialildimetilamônio) (PDPA). Imagens adaptadas de [42,43].

As ftalocianinas (Figura 6a) são macromoléculas orgânicas cuja fórmula geral é  $C_{32}H_{18}N_8$  e seus átomos de hidrogênio centrais podem ser substituídos por um átomo metálico, levando à formação de ftalocianinas metálicas. Essas macromoléculas possuem alta estabilidade térmica e química, e estrutura eletrônica conjugada que dá um caráter semicondutor a este material [44].

As argilas montmorilonita têm como fórmula geral  $M_x(Al_{4-x}Mg_x)Si_8O_{20}(OH)_4$  e são estruturadas por camadas de duas folhas tetraédricas de sílica intercaladas por uma folha de alumina, que são ligadas por átomos de oxigênio presentes em ambas as folhas. O empilhamento dessas camadas é mantido por forças polares relativamente fracas e por forças de van der Waals, e entre essas lamelas há lacunas onde residem cátions [43]. Estes cátions podem ser trocados com outros cátions presentes em solução aquosa sem que a estrutura cristalina da argila se modifique, conferindo à argila propriedades de adsorção elevadas [45]. Normalmente, inserem-se moléculas orgânicas nessas lacunas para a fabricação das argilas organofílicas, muito utilizada em nanocompósitos poliméricos. Neste trabalho utilizamos a argila já dopada com  $K^+$ , aqui denominada MMt-K (Figura 6b).

Os polímeros condutores reúnem as propriedades dos polímeros convencionais (baixa densidade, alta flexibilidade e elasticidade, cadeias longas...) [46] com as propriedades ópticas e elétricas de metais e semicondutores [47]. A grande maioria destes polímeros era tóxica e/ou sofria degradação das propriedades físico-químicas em atmosfera ambiente, até a descoberta do PEDOT:PSS [47] (Figura 6c). O PEDOT é um polímero conjugado carregado positivamente, e o PSS é um grupo funcional carregado negativamente que o envelope para torná-lo solúvel em

água. O PEDOT:PSS tem as vantagens de ser transparente, flexível, ter boa processabilidade para formação de filmes e elevada estabilidade ambiental [47].

Brevemente, o sistema de *língua eletrônica* foi formado por um IDE sem recobrimento (*bare*) e por três IDEs recobertos com filmes LbL de PDDA/CuTsPc, PDDA/MMt-K, e PDDA/PEDOT:PSS, semelhante ao utilizado anteriormente em nosso grupo [12]. Para a fabricação dos filmes LbL utilizamos os seguintes materiais: ftalocianina tetrassulfonada de cobre (CuTsPc), argila montmorilonita de potássio (MMt-K), poli(3,4-etilenodioxitiofeno)-poli(sulfonato de estireno) (PEDOT:PSS) e poli(cloreto de dialildimetilamônio) (PDDA), e suas estruturas químicas estão ilustradas na Figura 6. Todos os materiais foram adquiridos da Sigma-Aldrich e dispersos em água ultrapura produzida em um sistema Sartorius Arium Comfort nas concentrações 0,5 mg/mL, 1 mg/mL, 0,2 mg/mL, e 10 µL/mL, para CuTsPc, MMt-K, PEDOT:PSS e PDDA, respectivamente, conforme estudos prévios de [12,48].

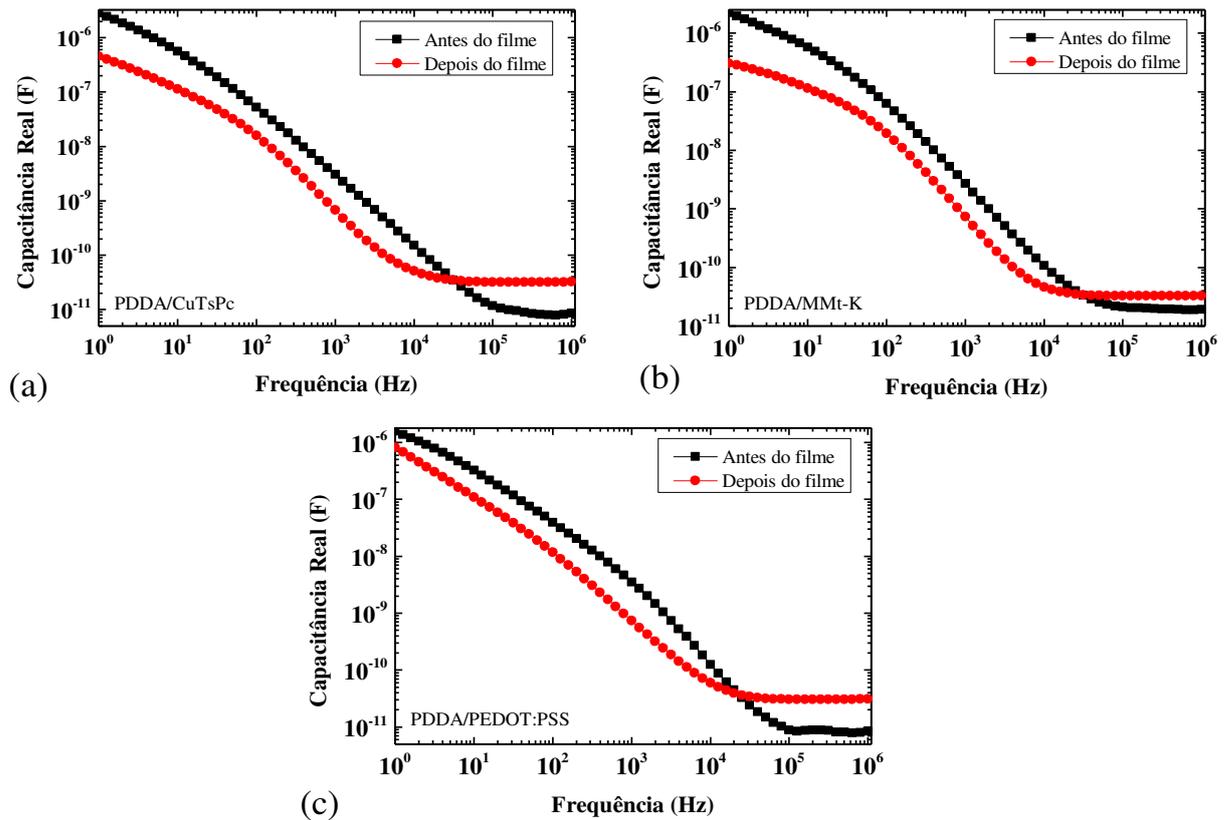
Estes filmes LbL possuem respostas elétricas distintas, sendo que o de PDDA/MMt-K é praticamente isolante e possui capacidade de troca iônica com alguns materiais, enquanto o de PDDA/CuTsPc tem características semicondutoras e o de PDDA/PEDOT:PSS é condutor (praticamente ôhmico). A escolha destes materiais veio de experiências anteriores em nosso grupo de pesquisa, e o ponto essencial são as respostas elétricas diferentes para a construção da “impressão digital” das soluções analisadas.

Depois de deixarmos as superfícies dos IDEs impressos negativas com a esfoliação química, começamos a nanoestruturação dos filmes mergulhando inicialmente os eletrodos em uma solução de PDDA (que possui carga positiva quando disperso em água). Em seguida, fazemos a etapa de lavagem e por fim mergulhamos os IDEs no material de carga negativa (solução de CuTsPc a pH 8, solução de MMt-K a pH 3, ou solução de PEDOT:PSS a pH 3, dependendo de qual filme estivermos construindo) também por 10 minutos e repetimos esse processo 50 vezes. Desta maneira, formamos os filmes ultrafinos (PDDA/CuTsPc)<sub>50</sub>, (PDDA/MMt-K)<sub>50</sub>, e (PDDA/PEDOT:PSS)<sub>50</sub> sobre os IDEs, com 50 bicamadas depositadas em cada. Esse número de bicamadas foi escolhido para manter relação similar entre o número de bicamadas empregadas nos IDEs de ouro (3 bicamadas) e a altura dos interdigitados [12], porque, até então, tínhamos referências de trabalhos com IDEs construídos por fotolitografia e funcionalizados com esses mesmos filmes, mas com apenas 3 e 5 bicamadas. Como a geometria dos IDEs de PLA é maior que a dos IDEs de ouro sobre vidro, foi feita uma regra de três relacionado a altura dos dígitos e o número de bicamadas nos IDEs fabricados por fotolitografia e recobertos pelo filme (PDDA/CuTsPc)<sub>3</sub> com a altura dos dígitos dos nossos IDEs, e chegaram

ao valor de aproximadamente 50 bicamadas. Para manter um padrão entre todos os filmes, utilizamos esse número de bicamadas em todos.

Todo o processo de deposição foi feito de forma automática através de um setup desenvolvido no nosso grupo de pesquisa [49] controlado por Arduino, também em colaboração com o Prof. Varlei Rodrigues, que possibilita controlar o número de bicamadas, o tempo de imersão e as velocidades de imersão e emersão, minimizando a intervenção humana durante o processo de fabricação dos filmes LbL.

Notamos pequenas diferenças nas medidas elétricas antes e após a deposição dos filmes LbL sobre os IDEs, quando imersos em água destilada, como mostrado na Figura 7. Essas pequenas diferenças são atribuídas à natureza isolante das argilas montmorilonitas [43], já que CuTsPc e PEDOT:PSS apresentam comportamento semicondutor e condutor [44,47], respectivamente. Importante salientarmos que as diferenças pequenas se devem à geometria utilizada para os IDEs, uma limitação imposta pelo bico injetor da impressora FDM.



**Figura 7.** Espectros da capacitância pela frequência dos eletrodos depois da esfoliação química e antes da deposição dos filmes LbL (em preto), em comparação com medidas de impedância realizadas após o recobrimento com os filmes (em vermelho) para formação das unidades sensoriais de (a) PDDA/CuTsPc, (b) PDDA/MMt-K e (c) PDDA/PEDOT:PSS. Medidas obtidas em 25 mV e em água destilada.

## 2.3. Aplicação da *língua eletrônica* na análise de solos

### 2.3.1. Amostras de solo

Existem na literatura muitas pesquisas sobre novas tecnologias para a agricultura de precisão [7,19,50]. Neste trabalho aplicamos a *língua eletrônica* na análise de macronutrientes em amostras de solos. Essas amostras foram coletadas em uma área de vegetação nativa em Campinas, a 20 cm de profundidade, para obter solo com fertilidade natural [6]. Elas foram preparadas e previamente analisadas por nossos colaboradores da FEAGRI. Eles se utilizaram de duas amostras controle com baixa fertilidade natural (sem macronutrientes adicionados, que chamamos de A-000), sendo uma de solo arenoso e a outra de solo argiloso, que foram separadas em vários grupos. Em cada grupo foi adicionado um macronutriente em determinada

quantidade, e as amostras foram codificadas como A-100, A-010, A-001, A-200, A-020, A-002 e A-222. Os macronutrientes incorporados foram nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), e a sequência numérica está relacionada à adição desses macronutrientes NPK em cada amostra, sendo que o A (de amostra) foi adicionado para evitar confusão com quantidades numéricas pelo texto. Neste código de amostras, 0 representa a menor concentração (fertilidade natural, ou seja, não foi adicionado aquele macronutriente ao qual se refere), 1 refere-se à concentração média (ou seja, foi adicionado um pouco daquele nutriente) e 2 está relacionado às maiores concentrações de macronutrientes. A quantidade de macronutrientes que foi efetivamente fixada pelas amostras de solo está apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição dos solos arenosos e argilosos quanto à disponibilidade de N, P e K, de acordo com análises químicas tradicionais. As unidades de medida são  $\text{g.kg}^{-1}$ ,  $\text{mg.dm}^{-3}$  e  $\text{mmolc.dm}^{-3}$  para N, P e K, respectivamente.

<b>Código das amostras (A-NPK)</b>	<b>Solo Arenoso</b>	<b>Solo Argiloso</b>
A-000	-; 4; 0,9	-; 5; 0,8
A-100	378; 6; 1	994; 12; 0,6
A-010	406; 21; 0,9	917; 220; 0,7
A-001	462; 4; 4,7	924; 1; 4
A-200	379; 6; 0,9	994; 15; 0,4
A-020	364; 314; 0,9	973; 419; 1
A-002	378; 4; 16	910; 1; 8,4
A-222	371; 126; 11,7	1057; 464; 7,3

A Tabela 1 apresenta os valores NPK de cada uma das amostras, de acordo com as análises químicas feitas, antes das amostras nos serem repassadas. A adição dos macronutrientes foi feita de forma que as amostras com A-100, A-010 e A-001 receberam uma quantidade que normalmente se utiliza para adubar o solo, enquanto as amostras A-200, A-020 e A-002 receberam uma quantidade de macronutrientes acima do normal. Entretanto, observando a Tabela 1, percebemos que os solos argilosos estão com valores mais altos (principalmente de nitrogênio) do que os solos arenosos. Esse fato ocorre devido à própria natureza do solo arenoso, que, mesmo sendo adubado com a mesma quantidade de macronutrientes que o argiloso, possui fixação menor deles. A escolha dos macronutrientes

NPK deve-se ao fato de estes serem os mais importantes para a agricultura [51]. A distinção entre os dois tipos de solos (arenoso e argiloso) também é importante, porque até então nunca tínhamos comparado os resultados para saber se obtemos respostas semelhantes ou diferentes com base em solos controle de origens distintas, ressaltando que as amostras são complexas pela diversidade de matéria orgânica e inorgânica naturalmente presentes em qualquer solo.

Devido a essa complexidade, podemos observar da Tabela 1 que, apesar do código dado indicar a quantidade relativa de nutrientes em cada amostra, os valores encontrados dos macronutrientes por análise química se revelam diferentes. Por exemplo, a amostra A-100 deveria ter uma quantidade intermediária de nitrogênio adicionada e, para a amostra A-010, o mesmo deveria ocorrer para fósforo. No entanto, nos solos arenosos, A-010, além de ter mais P, possuem um pouco mais de N do que A-100. Outro exemplo é a amostra arenosa A-002, que tem mais N que a A-222, além de ter bem mais potássio, ao invés de ter uma quantidade similar. Essas e outras diferenças, apesar de parecerem pequenas, apareceram como fatores importantes nas análises multivariadas que apresentaremos mais à frente.

Depois de analisarmos as amostras de solo apresentadas na Tabela 1, o Prof. Dr. Lucas Rios do Amaral (FEAGRI, UNICAMP) enviou 6 outras, identificadas como: 1A, 2A, 3A, 4A, 5A e 6A. O objetivo foi realizar um “teste cego”, no qual utilizamos a mesma metodologia empregada na análise das amostras anteriores, porém, sem sabermos quais eram os nutrientes e em quais quantidades estavam nessas novas amostras, com o intuito de provarmos que, mesmo sem identificação, conseguimos a distinção de amostras através de um procedimento relativamente simples. Apenas após terminarmos as medidas é que nos foi dada as especificações das amostras, ilustradas na Tabela 2.

**Tabela 2.** Composição dos solos adquiridos para o teste cego, de acordo com análises químicas tradicionais. CTC: capacidade de troca de cátions. Saturação: correspondente à umidade do solo.

<b>Amostras</b>	<b>Argila</b> g/kg	<b>P</b> mg/ dm <sup>3</sup>	<b>pH</b>	<b>K</b> mmol/ dm <sup>3</sup>	<b>Ca</b> mmol/ dm <sup>3</sup>	<b>Mg</b> mmol/ dm <sup>3</sup>	<b>CTC</b> mmol/ dm <sup>3</sup>	<b>Saturação</b> %	<b>S</b> mmol/ dm <sup>3</sup>
1A	31	8	4,9	1,3	17	8	41,4	64	11
2A	32	26	5,3	2,3	41	15	77,5	75	17
3A	158	6	5,1	0,6	15	11	47,8	56	20
4A	165	6	5,1	1,7	20	11	51	65	25
5A	= amostra 2A								
6A	= amostra 3A								

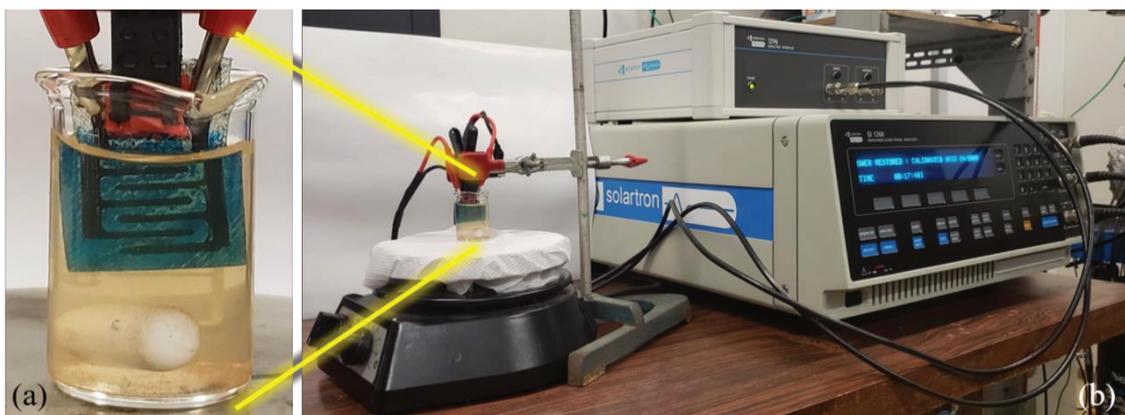
### 2.3.2. Espectroscopia de impedância

A espectroscopia de impedância (IS, do inglês *Impedance Spectroscopy*) é uma técnica bastante usada para a análise e caracterização de materiais, avaliando a impedância do sistema em função da frequência aplicada. Um sinal alternado (AC, do inglês *Alternating Current*) é aplicado pelo Analisador de Impedâncias acoplado a uma interface dielétrica, possibilitando medidas precisas da impedância de materiais em uma faixa ampla de frequências (geralmente de 1  $\mu$ Hz a 32 MHz nos impedancímetros comerciais). A análise da impedância em função da frequência permite a identificação das interações que ocorrem na interface eletrodo/eletrólito, através da análise de circuitos elétricos equivalentes. Simplificadamente, as interações entre os filmes LbL depositados sobre os IDEs que formam as unidades sensoriais e os sistemas líquidos analisados aparecem na região de kHz [11,52]. Neste trabalho, apresentaremos as medidas de impedância como a capacitância real (caracterizada por valores negativos da fase da impedância) em função da frequência para mantermos o mesmo procedimento adotado por nosso grupo de pesquisa em trabalhos anteriores [12], além do fato de nossas unidades sensoriais serem capacitores planos (podem facilitar simulações em circuitos elétricos equivalentes, mas não é o foco desta dissertação).

As análises consistem em dispersar cada amostra de solo em água ultrapura (Sartorius, modelo Arium Comfort I) na proporção de 1 mg/mL, colocar essa dispersão em agitação em ultrassom por meia hora para melhor solubilizar a amostra em água e deixá-la esfriar.

Posteriormente, as medidas elétricas são feitas em temperatura ambiente com o analisador de impedâncias Solartron (modelo 1260A) acoplado a uma interface dielétrica (modelo 1296A), com 25 mV de amplitude na faixa de frequências de 1 -  $10^6$  Hz. Realizamos a imersão das unidades sensoriais em cada dispersão, conectamos o eletrodo ao analisador de impedância, e utilizamos um agitador magnético para evitar que o solo decante na dispersão durante a aquisição de dados, sempre realizada em triplicata e em medidas independentes (mencionadas abaixo). Antes e após um conjunto de medidas em cada amostra de solo, em cada unidade sensorial, realizamos medidas em água destilada para observar se a resposta elétrica continua a mesma ou se houve algum indício de contaminação cruzada. Caso ocorram indícios de contaminação, deixamos a unidade sensorial imersa em água por mais tempo para limpá-la. É utilizada água destilada para essa verificação porque sua resposta elétrica é mais estável do que aquelas obtidas com água ultrapura.

Portanto, as medidas elétricas foram realizadas com as amostras de solo dispersas em água sob agitação constante e não-turbulenta, com as unidades sensoriais imersas na dispersão formada. Todas as 16 amostras de solo (8 solos arenosos e 8 argilosos) foram medidas em triplicata com as 4 unidades sensoriais, resultando em 192 medidas independentes. A Figura 8 ilustra a configuração experimental para o sistema de *língua eletrônica* aplicada em análises de solo.



**Figura 8.** (a) Zoom na unidade sensorial de PDDA/CuTsPc em um béquer com uma amostra de solo em dispersão aquosa e (b) montagem experimental usada para as análises de impedância da *língua eletrônica*.

Após a aquisição dos dados da capacitância, utilizamos o HCA para a análise do agrupamento das medidas em triplicata de cada amostra. O HCA é um método estatístico multivariado de reconhecimento de padrões capaz de reduzir a dimensionalidade dos dados de

grande porte, e a sua principal finalidade é reunir amostras de tal modo que aquelas pertencentes a um mesmo grupo sejam mais parecidas entre si do que com as amostras dos outros grupos [16]. Para isso, é utilizada uma técnica aglomerativa que enxerga cada objeto (ou, no nosso caso, cada medida) como um grupo unitário e faz o cálculo da distância Euclidiana (no nosso caso, medidas da capacitância em 1 kHz, a mesma frequência utilizada depois na construção do PCA) entre todos os grupos unitários para descobrir quais são os dois grupos mais semelhantes entre si (com a menor distância Euclidiana entre eles). Ele agrupa os dois objetos mais semelhantes em um mesmo grupo, e novamente faz o cálculo entre todos os grupos, até ter agrupado todos os objetos em um único grupo. Existem diferentes escolhas para qual métrica utilizar e qual técnica de agrupamento, mas sempre é aconselhável utilizar a que melhor se ajusta aos dados. Sua representação é através de um dendograma (ou “árvore”), no qual o comprimento de cada “ramo” está relacionado com a semelhança entre aquele grupo. Quanto menor o ramo, mais semelhantes os dois grupos ligados por ele, e quanto maior, mais diferentes são as amostras. Adicionalmente, os dados também foram reduzidos dimensionalmente por PCA. O PCA é um método estatístico amplamente utilizado no reconhecimento de padrões para reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados brutos, facilitando a visualização da informação. Este método consiste em reescrever as coordenadas de um conjunto de dados (a matriz de entrada) em um novo sistema de eixos ortogonais, chamado Componentes Principais. As novas coordenadas (*scores*) surgem da combinação linear das variáveis originais e, portanto, esses dados podem ser representados por um número menor de fatores descritivos, reduzindo o tamanho do conjunto analisado, com perda mínima de informação [16–18]. Aqui, nós usamos a parte real da capacitância,  $C$ , e os gráficos PCA foram obtidos a partir de  $C$  em uma frequência fixa (1 kHz) para cada uma das unidades sensoriais, pois já foi feito um estudo no grupo [12] no qual foi verificado que, para um sistema similar ao apresentado nesta dissertação, kHz é a região de frequência ideal para minimizar perda de informação [53].

### 2.3.3. Limite de detecção

Também foram calculados os limites de detecção (LD) de duas unidades sensoriais (IDE sem filme e recoberto com PDDA/PEDOT:PSS) para quatro amostras de solo (A-000 e A-002, para ambos os solos arenosos e argilosos). O limite de detecção é considerado como sendo a menor concentração, ou quantidade, que um elemento pode ser medido por um determinado instrumento. Fizemos as medidas elétricas nas amostras de solo dispersas em diferentes concentrações, de 0,1 a 1,0 mg/mL, para avaliar o LD do sistema de *língua eletrônica* baseado

em eletrodo impresso via impressão 3D. O LD foi calculado de forma semelhante à literatura [54,55] como  $LD = (3 \times \sigma)/b$ , sendo  $\sigma$  o desvio padrão das medidas e  $b$  a inclinação da curva de calibração (ajuste linear).

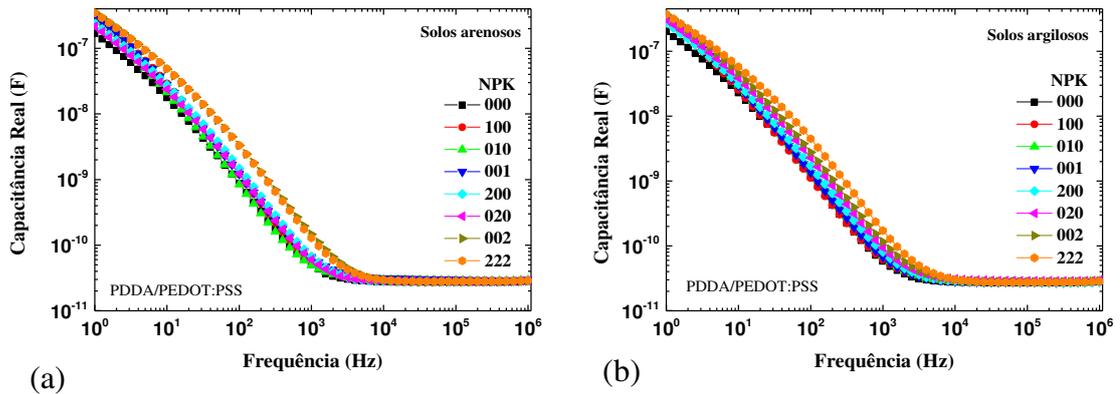
#### **2.3.4. Outras caracterizações**

Depois de realizadas as análises dos solos, fizemos medidas de microscopia óptica com um microscópio Leica, modelo IC80 HD no laboratório de microfabricação no LNNano/CNPEM, perfilometria com o equipamento Perfilômetro/Rugosímetro – Dektak 150 do LAMULT e microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS, do inglês *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*) com um microscópio eletrônico de varredura Jeol, JSM-6010, em colaboração com a Profa. Dra. Elidiane Cipriano Rangel, do laboratório de Plasmas Tecnológicos da Unesp de Sorocaba. Essas análises foram realizadas nas quatro unidades sensoriais (IDE sem recobrimento, PDDA/CuTsPc, PDDA/MMt-K e PDDA/PEDOT:PSS) para observarmos alguns de seus aspectos físicos.

### **3. Resultados e Discussões**

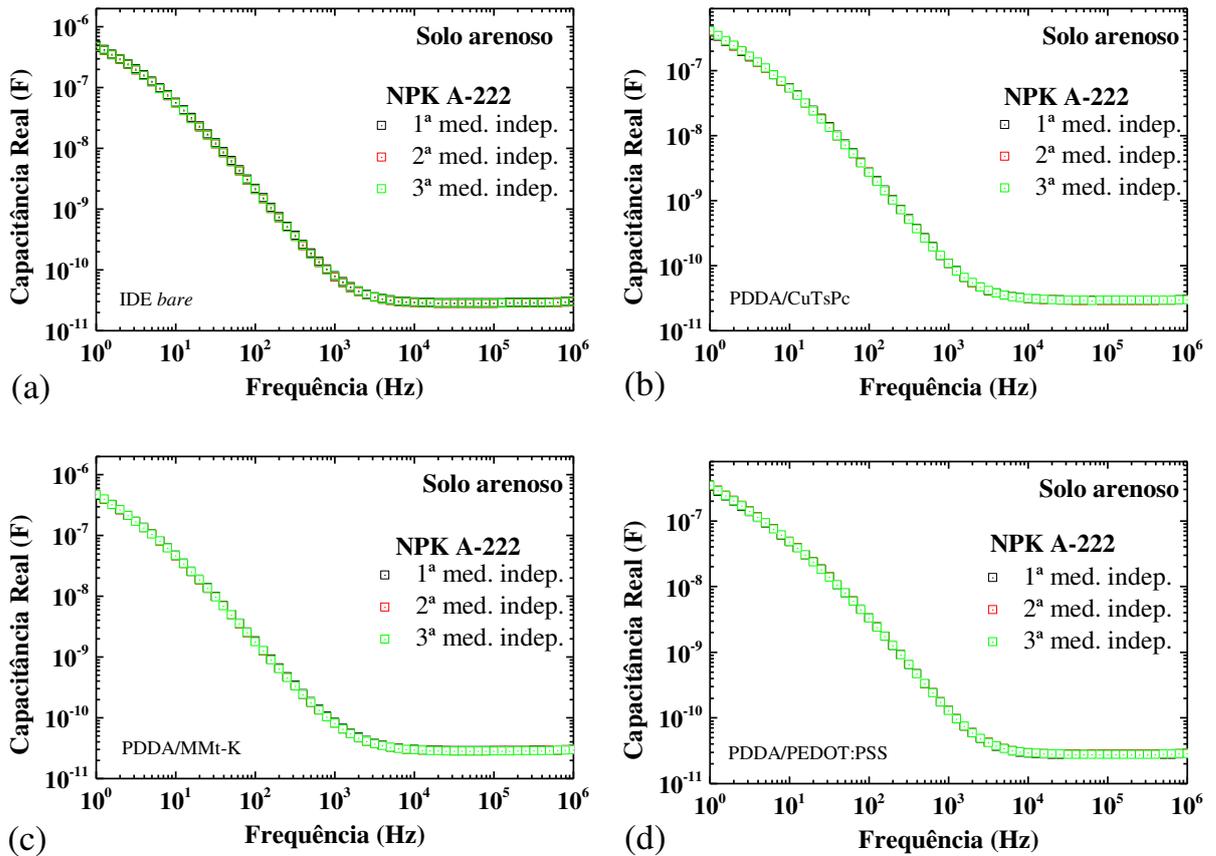
#### **3.1. Medidas elétricas**

As diferenças entre as respostas elétricas das unidades sensoriais foram importantes para observarmos distinção entre amostras de solos arenosos e argilosos, ilustrado na Figura 9 apenas para a unidade sensorial PDDA/PEDOT:PSS. Importante ressaltarmos que esse mesmo tipo de comportamento foi observado nas outras três unidades sensoriais, ou seja, as curvas se diferenciam dentro de uma faixa de frequência, mas, visualmente, é difícil observar a separação entre as amostras, motivo pelo qual utilizamos recursos estatísticos e computacionais para a análise dos dados.

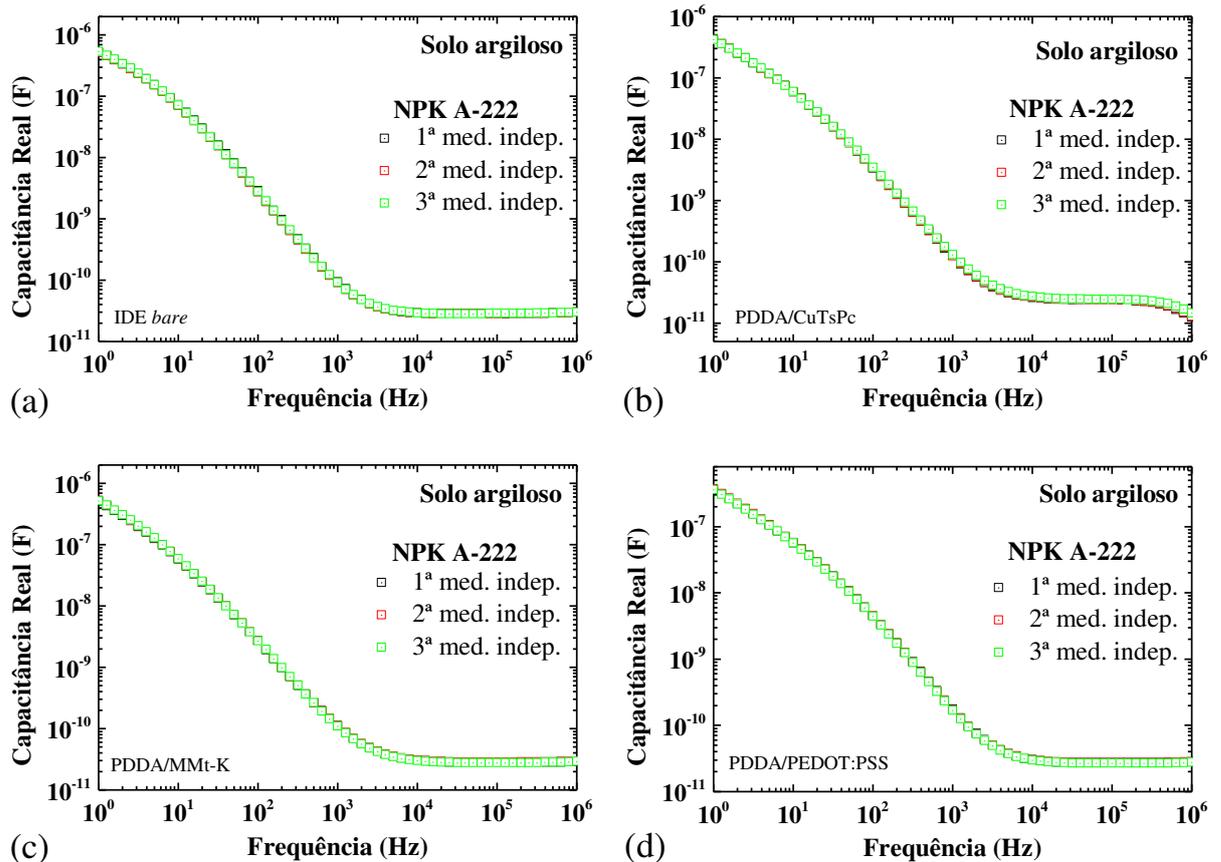


**Figura 9.** Espectros da capacitância real pela frequência para a unidade sensorial PDDA/PEDOT:PSS para uma medida de cada solo **(a)** arenoso e **(b)** argiloso, totalizando os 16 tipos de solo, em dispersão aquosa de 1mg/mL em água ultrapura utilizando um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude.

Com relação à reprodutibilidade, as Figuras 10 e 11 indicam três medidas independentes, ou seja, para cada medida foi utilizada uma parte diferente da dispersão da amostra de solo em água, em cada uma das quatro unidades sensoriais imersas em amostras de solos arenosos e argilosos enriquecidas com uma maior quantidade de macronutrientes (A-222, de acordo com o código apresentado na Tabela 1). Mesmo em uma concentração mais elevada, que poderia levar à contaminação cruzada ou saturação das unidades sensoriais, observamos boa reprodutibilidade das medidas obtidas com os eletrodos impressos 3D para avaliação das amostras de solo. Temos praticamente o mesmo resultado, em três medidas independentes para as 4 unidades sensoriais em todas as 16 amostras analisadas, considerando ainda o fato de que a geometria dos IDEs impressos não é uma das mais sensíveis (separação de 1 mm entre os dígitos) quando comparada com sensores semelhantes na literatura (separação entre dígitos na ordem de  $\mu\text{m}$ ).

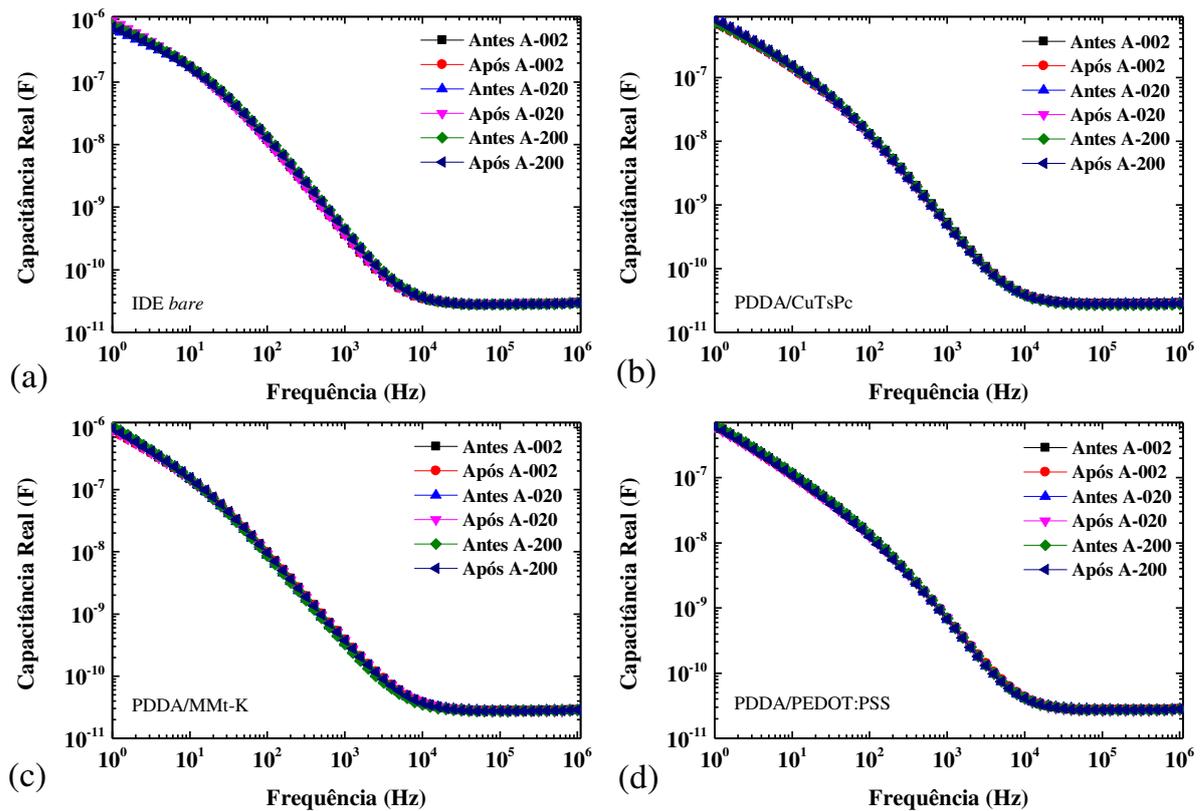


**Figura 10.** Espectros de capacitância versus frequência para a amostra de solo arenoso A-222 medidos com as unidades sensoriais (a) IDE *bare*, (b) PDDA/CuTsPc, (c) PDDA/MMt-K e (d) PDDA/PEDOT:PSS, todas em dispersão aquosa de 1 mg/mL em água ultrapura utilizando um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude.



**Figura 11.** Espectros de capacitância versus frequência para a amostra de solo argiloso A-222 medidos com as unidades sensoriais (a) IDE *bare*, (b) PDDA/CuTsPc, (c) PDDA/MMt-K e (d) PDDA/PEDOT:PSS, todas em dispersão aquosa de 1 mg/mL em água ultrapura utilizando um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude.

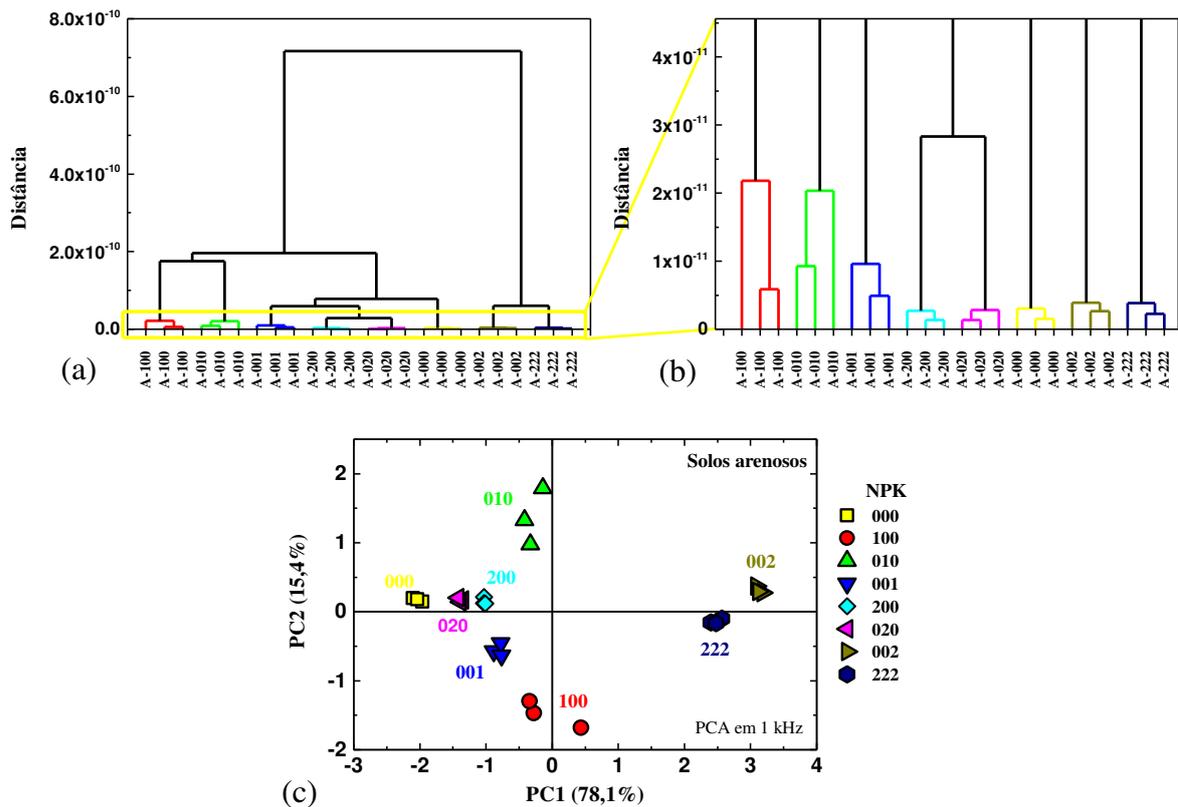
Se temos contaminação cruzada, aparentemente não está influenciando nossas medições, pois a Figura 12 ilustra medidas em água destilada que foram intercaladas antes e após usarmos as unidades sensoriais em algumas análises de solos argilosos dispersos em água ultrapura em 1 mg/mL. Os eletrodos são limpos entre as medições das amostras para evitar uma possível contaminação e, em seguida, realizamos as medidas apenas em água destilada para constatar se as medidas elétricas antes e após cada amostra analisada são reproduzíveis. A Figura 12 indica que não temos uma mudança significativa no comportamento das curvas, o que nos sugere não haver contaminação cruzada nas unidades sensoriais. Os mesmos resultados da Figura 12 foram observados também para os outros solos, tanto argilosos quanto arenosos.



**Figura 12.** Espectros da capacitância em função da frequência em água destilada antes e após as medidas em triplicata dos solos A-002 (maior concentração de potássio), A-020 (maior concentração de fósforo) e A-200 (maior concentração de nitrogênio), todos argilosos, utilizando as unidades sensoriais (a) *IDE bare*, (b) *PDDA/CuTsPc*, (c) *PDDA/MMt-K* e (d) *PDDA/PEDOT:PSS*, todos utilizando um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude.

### 3.2. Análise por métodos estatísticos

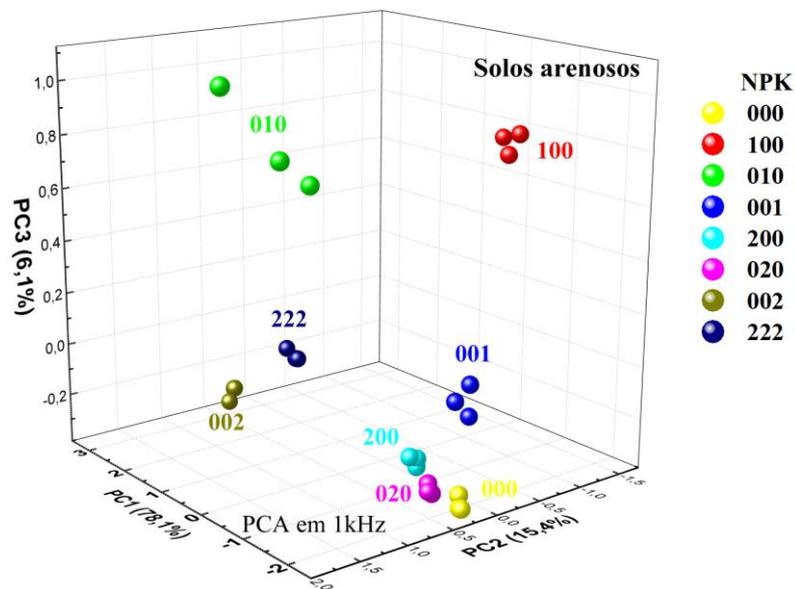
A Figura 13 apresenta os gráficos HCA e PCA dos dados da capacitância em 1 kHz para amostras de solo arenoso enriquecidas com quantidades distintas de N, P e K (conforme o código apresentado na Tabela 1). As cores estão uniformizadas entre os gráficos HCA e PCA para facilitar comparações.



**Figura 13.** (a) Dendrograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises dos solos arenosos diluídos em água ultrapura em 1 mg/mL, (b) zoom no dendrograma para melhor visualização do agrupamento das amostras e (c) PCA em 1 kHz dessas mesmas medidas das amostras de solo arenoso, obtidas com um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude.

O dendrograma (Figuras 13a e 13b) indica uma boa separação das amostras de solo, confirmadas no PCA (Figura 13c). O uso de apenas duas Componentes Principais no PCA (Figura 13c) engloba 93,5% da informação total coletada (PC1 + PC2) pelo conjunto de solos arenosos. Além disso, a maior parte da informação está concentrada na Primeira Componente Principal (PC1), com 78,1%. Isso implica que temos 78,1% de chance de separarmos as amostras olhando apenas para o “eixo x” na Figura 13. Conseguimos também um bom agrupamento dessas amostras quando levamos em consideração a Terceira Componente Principal (PC3), em um gráfico tridimensional, exibido na Figura 14. Pode-se observar na Figura 13c que as amostras A-100 e A-010 (quantidades intermediárias de nitrogênio e fósforo adicionadas, respectivamente) não se agrupam tão bem quanto as outras, e o mesmo é observado no HCA (curvas vermelho e verde), em que as ramificações estão mais longas do que todas as outras. Já as amostras A-200 e A-020 (cores ciano e magenta) representam as amostras com

grande quantidade de nitrogênio e potássio, respectivamente, estão bem perto uma da outra no PCA e em um teste cego poderiam ser consideradas uma mesma amostra. O mesmo comportamento é observado no HCA, onde a próxima ramificação a se formar é exatamente com essas duas amostras, ou em outras palavras, se quiséssemos encontrar apenas 7 agrupamentos de solo, as amostras A-200 e A-020 seriam consideradas iguais. De acordo com a Tabela 1, a principal diferença entre elas é a quantidade de fósforo fixado no solo, uma vez que não foi adicionado potássio em nenhuma delas, e a quantidade de nitrogênio em A-200 estava apenas ligeiramente maior que na amostra A-020.

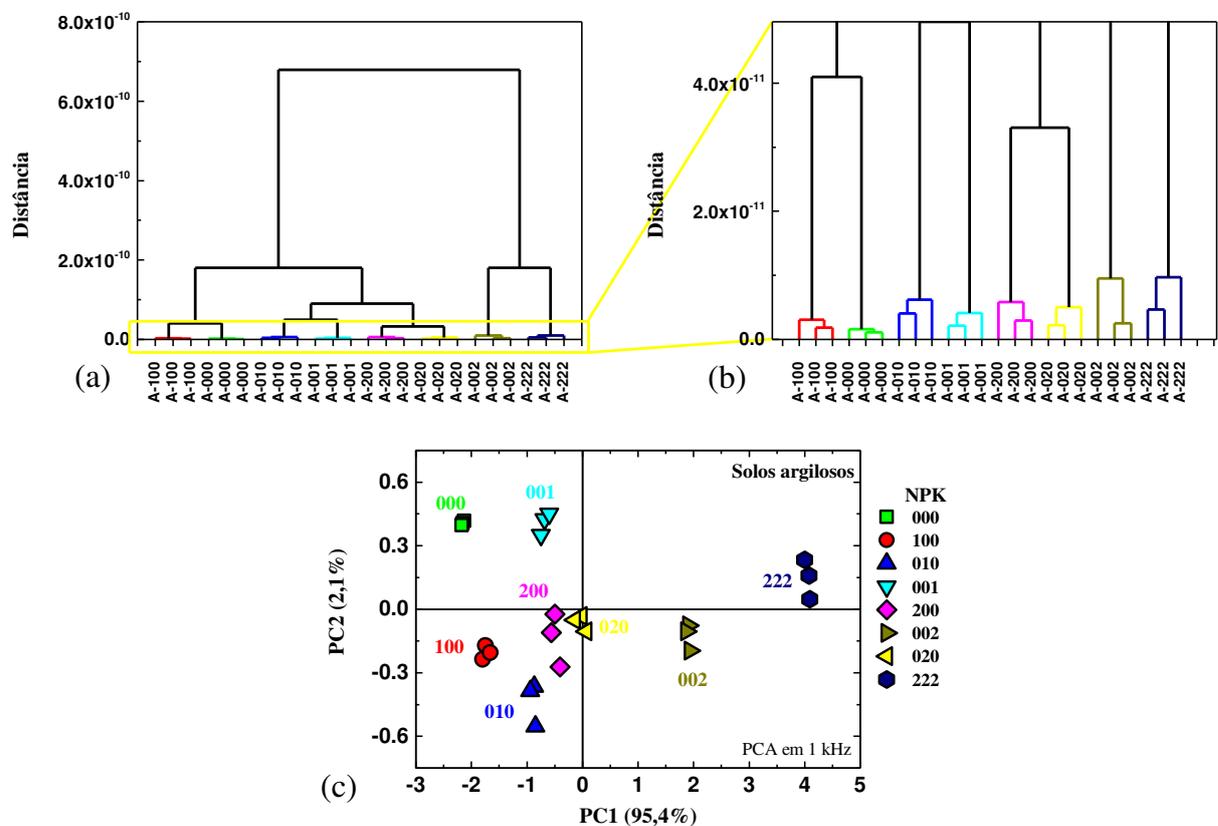


**Figura 14.** Gráfico de PCA tridimensional em 1 kHz das amostras de solo arenoso, obtidas com um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude.

Na Figura 14 as cores são correspondentes às utilizadas no PCA da Figura 13c, e as amostras continuam com boa separação, com apenas os solos A-100 e A-010 na região positiva do PC3, mas observa-se que a Terceira Componente Principal contribui apenas com 6,1% de informação, valor muito baixo para uma terceira componente para ser levado em consideração em um gráfico PCA, como nos próximos PCAs mostrados mais adiante, motivo pelo qual decidimos não mostrar mais PCAs tridimensionais.

Fizemos a mesma análise de dados com as amostras de solo argiloso, obtendo os gráficos da Figura 15. Em ambos os dendogramas (Figuras 13a e 15a) podemos constatar um

grande agrupamento das amostras em dois conjuntos, um deles o das amostras A-002 e A-222, que são as que possuem maior fertilidade, e o outro com o restante das amostras. Pelas Figuras 13b e 15b (zoom dos dendogramas) observamos que todas as amostras formaram agrupamentos distintos, ou seja, cada grupo de três medidas independentes de uma mesma amostra foram de fato agrupadas como uma mesma amostra. Esses resultados corroboram as análises dos PCAs. A Figura 15c ilustra que apenas duas primeiras Componentes Principais englobam 97,5% da informação total coletada pelo conjunto de solos argilosos, sendo que a maior parte da informação está concentrada na Primeira Componente Principal (PC1), com 95,4%, não sendo necessário observarmos a Terceira Componente.



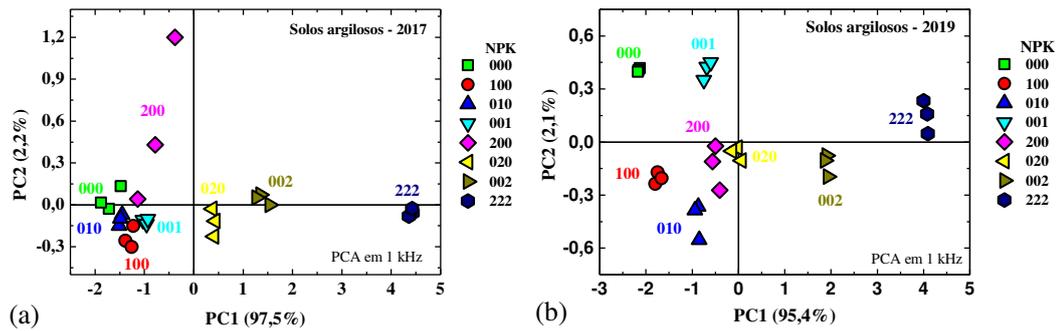
**Figura 15.** (a) Dendrograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises dos solos argilosos diluídos em água ultrapura em 1 mg/mL, (b) zoom no dendrograma para melhor visualização do agrupamento das amostras e (c) PCA, também em 1 kHz, das amostras de solo argiloso, obtidas com um analisador de impedâncias aplicando um sinal senoidal de 25 mV de amplitude.

Em uma vista mais geral dos gráficos de PCA (Figuras 13c e 15c), independentemente da textura do solo (arenoso ou argiloso), podemos ver que as amostras controle (A-000) estão

mais à esquerda, ou seja, possuem os menores valores para PC1, enquanto as amostras A-002 e A-222 estão nos valores mais altos para PC1. Esses dados sugerem que a Primeira Componente Principal pode estar relacionada com a fertilidade do solo, considerando que as amostras de solo com o código A-222 são aquelas que supostamente possuem um maior teor de N, P e K simultaneamente na mesma amostra. A amostra A-222 do grupo argiloso (Figura 15c) aparece oposta à amostra controle (em relação à PC1), mas, na Figura 13c, a A-002 está na extremidade positiva do grupo arenoso. Com base na Tabela 1, a amostra A-222 do grupo arenoso apresenta quantidades de N e K ligeiramente inferiores às da amostra A-002, o que pode levar às alterações observadas na posição observada em PC1.

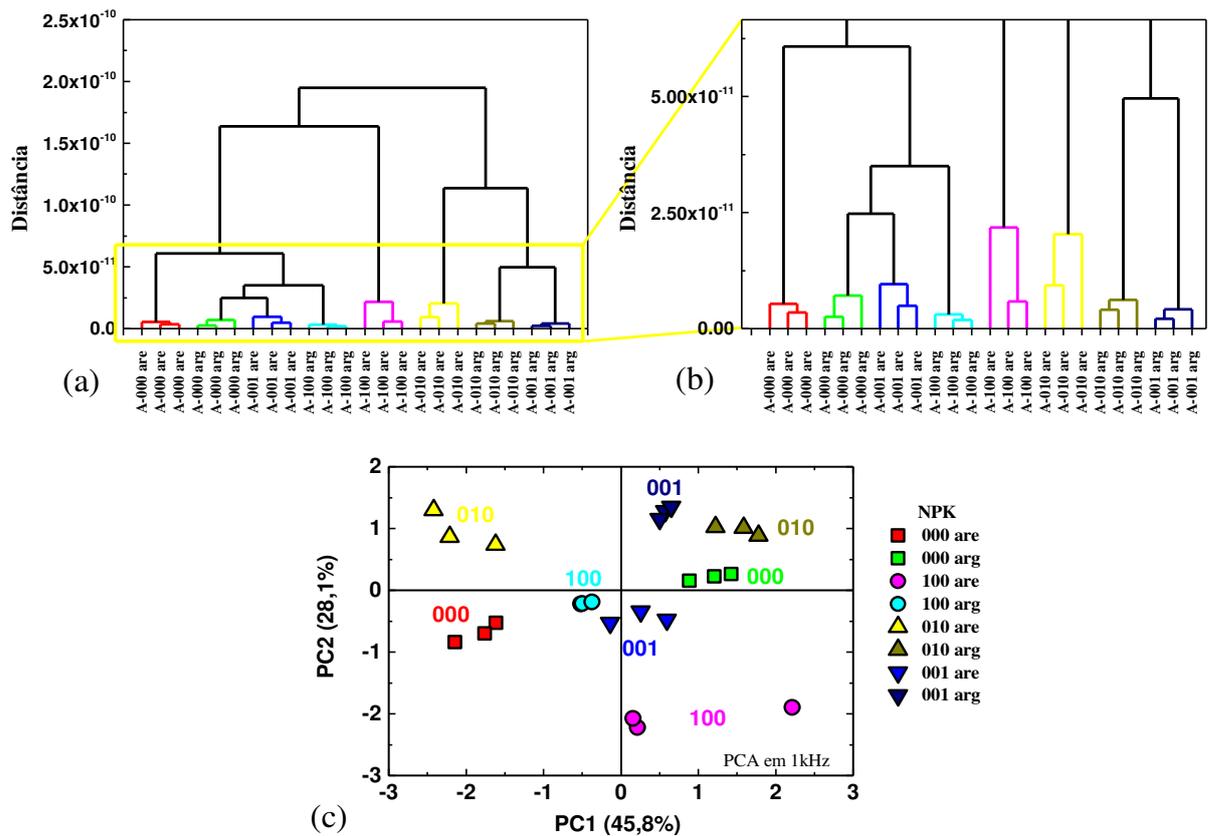
Para ambos os grupos de solo (arenoso e argiloso), a análise PCA também foi capaz de distinguir as amostras de solo com diferentes quantidades de um mesmo macronutriente. Para ilustrar, amostras com teores intermediários e altos de N (A-100 e A-200), P (A-010 e A-020) e K (A-001 e A-002) foram agrupadas em regiões distintas nas Figuras 13c e 15c. Portanto, a partir dos gráficos PCA pode-se ver claramente que esse sistema distingue todas as amostras de solo não apenas com macronutrientes distintos, mas também considerando amostras que têm quantidades diferentes de um mesmo nutriente.

A análise para o grupo de solos argilosos foi replicada com 2 anos de diferença. Os solos utilizados em 2017 foram obtidos da FEAGRI e armazenados em temperatura ambiente por alguns meses em potinhos até as medidas serem realizadas. Já os de 2019 foram obtidos também em 2017 da FEAGRI, mas foram armazenados em saquinhos. Ambos os lotes ficaram ao abrigo de luz, calor e umidade. Ressaltando que temos uma comparação de tempo, no qual a quantidade de matéria orgânica pode variar, e considerando ainda duas pesquisadoras distintas conduzindo medidas independentes com as mesmas amostras e seguindo o mesmo protocolo de medida, os resultados ainda apresentam boa reprodutibilidade, como ilustrado na Figura 16. Além da boa reprodutibilidade, também foi um bom indicador da vida útil do sistema de *língua eletrônica* apresentado aqui. Os resultados indicaram que a PC1 corrobora a informação da fertilidade do solo na Tabela 1, com maiores alterações observadas para o nitrogênio e, principalmente, para o potássio, sendo menos sensível ao teor de fósforo.



**Figura 16.** PCAs obtidos em 1 kHz dos solos argilosos. **(a)** Resultados adquiridos em 2017, com outra pesquisadora, mas utilizando o mesmo procedimento e **(b)** resultados obtidos por nós, em 2019.

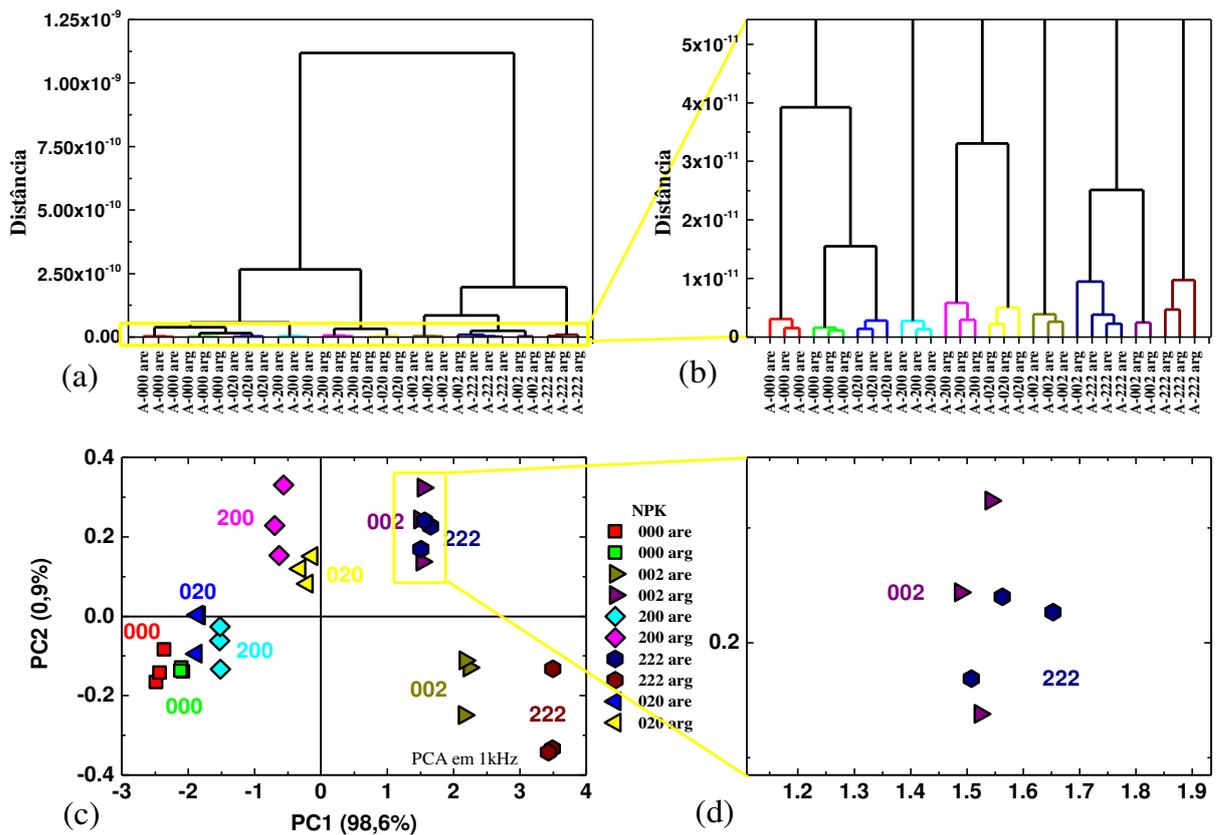
Como o tempo entre as análises dos solos influencia os resultados, e as medições foram feitas inicialmente nas amostras com baixa concentração de macronutrientes, independentemente de serem de solo arenoso ou argiloso, com um intervalo de alguns meses entre estas e as análises realizadas com as amostras com alta concentração de macronutrientes, fizemos análises multivariadas distintas para cada um desses dois grupos. A Figura 17 ilustra as análises feitas com as amostras com baixa concentração de macronutrientes.



**Figura 17.** (a) Dendrograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises das amostras de solo com baixa concentração de macronutrientes, em dispersão aquosa de 1 mg/mL, (b) zoom no dendrograma para melhor visualização do agrupamento das amostras e (c) PCA, também em 1 kHz, das amostras de solo com baixa concentração.

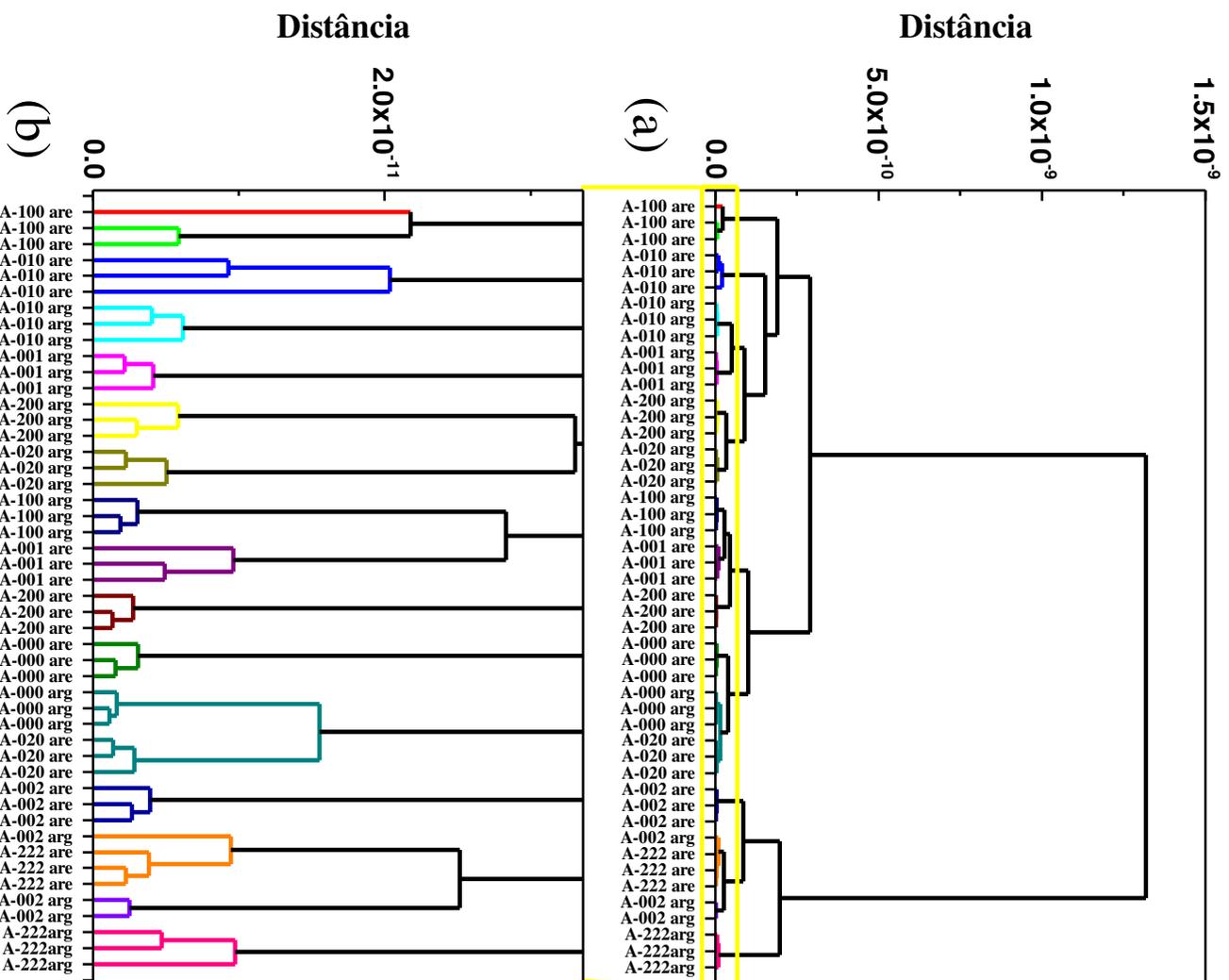
O dendrograma da Figura 17a apresenta o agrupamento de todas as amostras, diferenciando-as umas das outras. Na Figura 13b observamos que as amostras de solo arenoso com nutrientes (A-100, A-010 e A-001) se agrupam um pouco menos que as outras, e no PCA da Figura 17c é mais perceptível que a amostra A-100 de solo arenoso é a que menos se agrupa em comparação com as outras. Ainda assim, independentemente das concentrações dos macronutrientes utilizados (N, P e K), podemos observar na Figura 17 que há uma boa distinção entre todas as amostras, tanto pelos macronutrientes adicionados como pelo tipo de solo, indicando a viabilidade da proposta. É um resultado importante, pois foi a primeira análise com esses solos que fizemos e não sabíamos se este tipo de sensoriamento teria a sensibilidade para diferenciar amostras tão complexas pela diversidade de matéria orgânica e inorgânica existentes no solo.

Posteriormente, as amostras com alta concentração de macronutrientes foram analisadas juntamente com as amostras controle, ilustradas na Figura 18. O dendograma da Figura 18 agrupou razoavelmente as amostras de solo, assim como o PCA, com 99,5% de informação nas duas primeiras Componentes Principais. Quando visualizamos a Figura 18b, observamos que apenas as amostras A-222 de solo arenoso e A-002 de solo argiloso não estão agrupadas de forma a se diferenciarem. O dendograma juntou uma amostra A-002 (com alta concentração de potássio) com as outras três A-222 (com alta concentração dos três macronutrientes). Nas Figuras 18c e 18d podemos observar que essas amostras estão bem próximas uma da outra e que seriam consideradas como um único agrupamento se fosse um teste cego. De uma maneira mais geral, observamos na Figura 18c que apenas as amostras com grande quantidade de potássio ficaram à direita do gráfico de PCA, independente de terem bastante ou pouco nitrogênio e fósforo, e, à extrema esquerda ficaram as amostras controle.

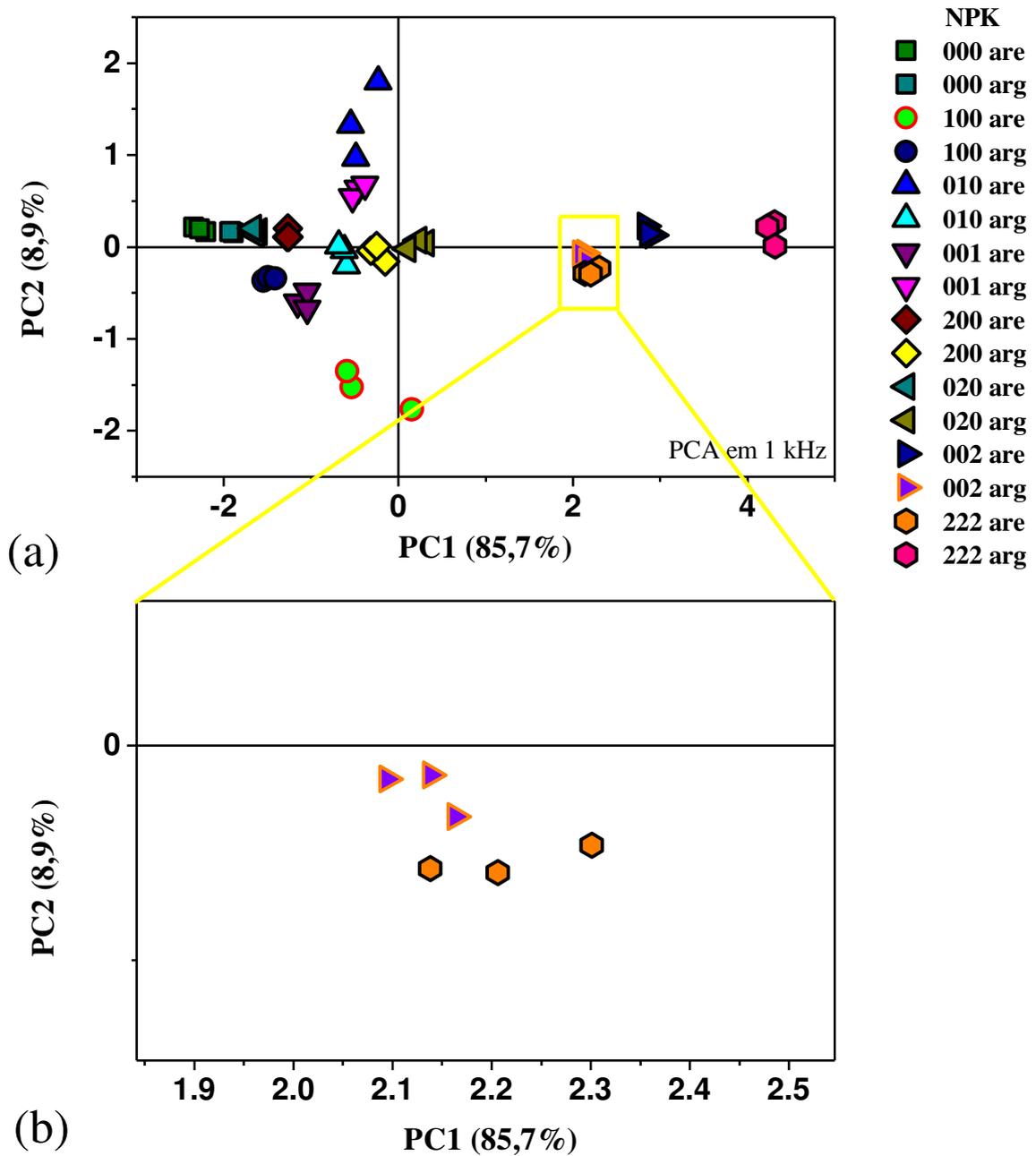


**Figura 18.** (a) Dendograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises das amostras de solo com alta concentração de macronutrientes, em dispersão aquosa de 1 mg/mL, (b) zoom no dendograma para melhor visualização do agrupamento das amostras, (c) PCA, também em 1 kHz, das amostras de solo com alta concentração e (d) zoom no PCA para melhor visualização do aglomerado de duas amostras distintas.

Até o momento, conseguimos verificar que as amostras estão sendo separadas utilizando as análises com a *língua eletrônica* sem a necessidade de aprendizado supervisionado ou pré-tratamento das amostras, com uma tendência nas amostras com menores quantidades de nutrientes ficarem à esquerda do gráfico de PCA e com maiores quantidades de potássio à direita (Figuras 13c, 15c e 18c). Nas Figuras 19 e 20 temos as análises multivariadas de todas as amostras analisadas, considerando solos arenosos e argilosos juntos, além das amostras com alta, média e sem adição de macronutrientes.



**Figura 19.** (a) Dendrograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises de todas as amostras de solo, em dispersão aquosa de 1 mg/mL e (b) zoom no dendrograma para melhor visualização do agrupamento das amostras.

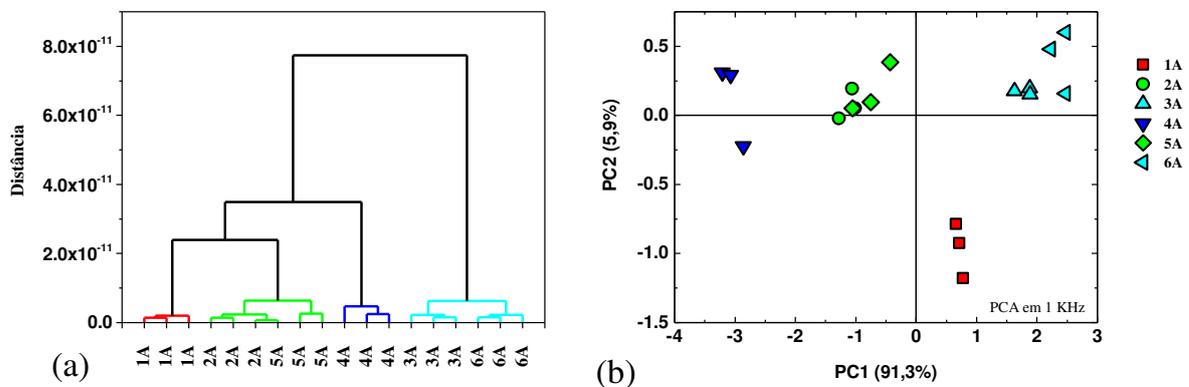


**Figura 20.** (a) PCA obtido para a capacitância em 1 kHz das análises de todas as amostras de solo, em dispersão aquosa de 1 mg/mL e (b) zoom no PCA para melhor visualização do aglomerado de duas amostras distintas.

Pelas Figuras 19a e 20a vemos todas as amostras com grande quantidade de potássio (A-002 e A-222) distante das demais. Pelo dendograma da Figura 18a observamos que essas amostras estão em um grupo totalmente distinto do restante, sendo que o mesmo pode ser observado em outros dendogramas (Figuras 13a, 15a e 18a) e, pelo PCA da Figura 20a, elas

estão na extrema direita. Ainda temos as amostras controle na extrema esquerda, como notado anteriormente nas Figuras 13c, 15c e 18c. No zoom do dendograma na Figura 19b observamos que a amostra controle (A-000) argilosa e a A-020 arenosa foram consideradas em um mesmo agrupamento (uma única amostra), enquanto que a amostra A-100 arenosa foi considerada como duas amostras distintas, o que já era de se esperar considerando que, no PCA das Figuras 13c e 17c, essa amostra está um pouco espalhada. Também observamos que, assim como no zoom do dendograma da Figura 18b (solos com alta concentração de nutrientes), as amostras A-222 e A-002 ficaram um pouco misturadas, mesmo o zoom do PCA na Figura 20b mostrando que não estão sobrepostas.

Depois dessas análises, realizamos um teste cego, sendo que as amostras que nos foram fornecidas estavam identificadas apenas por números. O procedimento realizado foi o mesmo descrito para as 16 amostras de solo arenoso e argiloso, e as amostras de solo foram dispersas em água a 1 mg/mL. Conseguimos identificar corretamente quais eram de solo arenoso (1A, 2A e 5A) e quais de solo argiloso (3A, 4A e 6A) apenas pela cor das dispersões, antes mesmo de disparar as medidas elétricas. As análises multivariadas estão apresentadas na Figura 21.



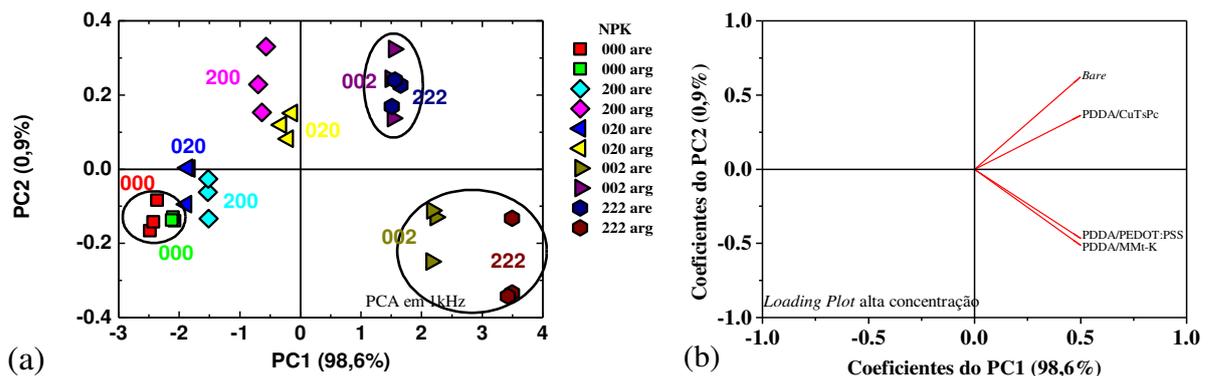
**Figura 21.** (a) Dendograma obtido para a capacitância em 1 kHz das análises das amostras de solo do teste cego, em dispersão aquosa de 1 mg/mL e (b) PCA, também em 1 kHz, dessas mesmas amostras de solo.

Podemos verificar tanto pelo dendograma quanto pelo PCA da Figura 21 que as amostras foram bem separadas em quatro grupos distintos. Também obtivemos na Figura 21b uma boa porcentagem de correlação, com um total de 97.2% (PC1 + PC2). Posteriormente, o Prof. Lucas da FEAGRI nos informou que as amostras 2A e 5A são a mesma (aglomerado verde), e a 3A e a 6A também são a mesma amostra (aglomerado ciano no canto superior direito).

do gráfico de PCA). A mesma cor para as amostras iguais no PCA foi colocada para uma melhor comparação com o HCA, mas utilizamos formatos diferentes para podermos identificar como essas amostras se comportaram. Tendo em vista que as amostras iguais ficaram bem próximas umas das outras e amostras diferentes ficaram separadas, conseguimos uma boa correlação em todos os casos analisados. Com relação à posição das amostras no gráfico do PCA (Figura 21b), não podemos comparar com as amostras A-NPK analisadas anteriormente, porque enquanto as A-NPK só têm variação nesses três nutrientes, as amostras do teste cego têm variação em vários nutrientes, como apresentado na Tabela 2.

### 3.3. Limite de detecção

Para o cálculo do limite de detecção foram utilizadas quatro amostras de solo (A-000 e A-002, ambos de solos arenosos e argilosos) e duas unidades sensoriais (IDE *bare* e PDDA/PEDOT:PSS). Não fizemos o limite de detecção para todas as unidades sensoriais por demandar um tempo de análises acima daquele previsto para a defesa da dissertação. Ressaltamos que esses resultados de limite de detecção estão além da programação prevista ao desenvolvimento do projeto. Essas amostras de solo foram escolhidas pelo fato de aparentemente terem um dos resultados mais distintos de capacitância entre todas as amostras medidas, como pode ser observado no PCA da Figura 22a, além de essas duas unidades sensoriais apresentarem respostas diferentes, como ilustrado na Figura 22b.

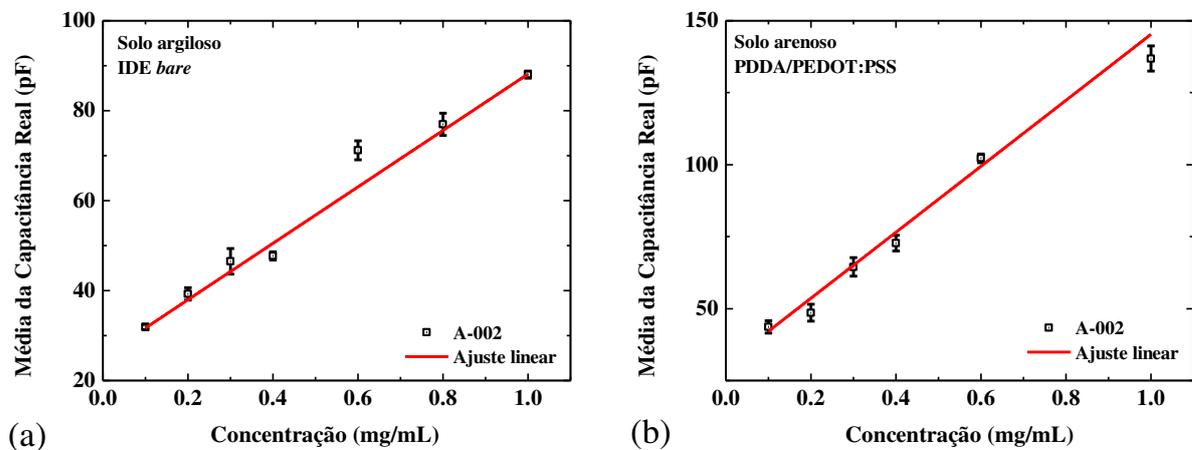


**Figura 22.** (a) Gráfico PCA das amostras com alta concentração de macronutrientes para os dois tipos de solos e (b) *loading plot* desse mesmo PCA.

A Figura 22a apresenta a análise por Componentes Principais de 10 amostras de solo. É possível observar que tanto as amostras A-002 quanto as A-222 (grupos destacados à direita do gráfico por círculos) são as amostras mais distantes do controle A-000 (grupo destacado à

esquerda por um círculo). O mesmo ocorre nos outros PCAs que contém essas amostras (conforme discutido anteriormente), motivo pelo qual escolhemos 4 dessas 16 amostras para a análise do limite de detecção. Na Figura 22b temos o *loading plot* do PCA. Brevemente, o *loading plot* é usado para identificar quais variáveis (unidades sensoriais, no nosso caso) possuem maior influência em cada Componente Principal. Em geral, os *loadings* variam de -1 a +1 para indicar a influência sobre cada PC, e um *loading* com valor zero indica baixa influência sobre a Componente Principal. Portanto, nosso *loading plot* mostra os sensores IDE *bare* e PDDA/CuTsPc distantes do PDDA/MMt-K e PDDA/PEDOT:PSS, indicando que possuem sensibilidades distintas. Para otimizar estas medidas que configuram uma caracterização extra em nosso projeto, escolhemos para o estudo do LD o par de unidades sensoriais IDE *bare* e PDDA/PEDOT:PSS.

As medidas elétricas foram feitas nessas amostras de solo dispersos em água ultrapura em diferentes concentrações de 0,1 a 1,0 mg/mL, e a Figura 23 retrata duas dessas análises considerando amostras que diferiam no tipo de solo.



**Figura 23.** Dados da capacitância obtidos em 1 kHz em amostras de solo com alto teor de potássio (A-002) dispersas em água de 0,1 a 1,0 mg/mL, **(a)** para a unidade sensorial IDE *bare* de amostras de solo argiloso e **(b)** para a unidade sensorial PDDA/PEDOT:PSS de amostras de solo arenoso.

De maneira a facilitar comparações e análises, a Tabela 3 apresenta os valores dos parâmetros de linearização, sensibilidade e limite de detecção (LD), obtidos a partir das curvas de calibração.

**Tabela 3.** Sensibilidade e limite de detecção (LD) para as unidades sensoriais IDE *bare* e PDDA/PEDOT:PSS durante as análises de solo. O conteúdo desta tabela corresponde aos dados de espectroscopia de impedância elétrica para amostras de solos arenosos e argilosos controle (A-000) e enriquecidas com a maior quantidade de potássio (A-002).

Unidade Sensorial	Grupo de Solo	Código das Amostras (A-NPK)	Sensibilidade ( <i>slope</i> ) (pF·mL/mg)	Intersecção (pF)	R <sup>2</sup>	LD (mg/mL)
IDE <i>bare</i>	arenoso	A-000	12 ± 2	29 ± 1	0,93	0,30 ± 0,04
		A-002	92 ± 6	23 ± 3	0,98	0,101 ± 0,006
	argiloso	A-000	30 ± 5	25 ± 2	0,92	0,20 ± 0,03
		A-002	63 ± 2	25 ± 1	0,99	0,065 ± 0,003
PDDA/ PEDOT: PSS	arenoso	A-000	20 ± 5	45 ± 3	0,77	0,4 ± 0,1
		A-002	115 ± 7	31 ± 3	0,99	0,091 ± 0,006
	argiloso	A-000	25 ± 1	34,2 ± 0,7	0,99	0,087 ± 0,004
		A-002	70 ± 6	36 ± 3	0,97	0,14 ± 0,01

Para o LD, o IDE *bare* foi escolhido por ter a mesma geometria (mesmo *design* e estrutura) dos demais, mas sem filme LbL, enquanto o PDDA/PEDOT:PSS foi escolhido devido à natureza elétrica mais condutora do PEDOT:PSS em relação às outras unidades sensoriais. As amostras controle dos solos A-000 foram utilizadas como padrão de comparação, enquanto que as amostras de solo A-002 foram escolhidas para as curvas de calibração, pois observamos também uma maior separação das amostras contendo alto teor de potássio quando comparado aos outros dois macronutrientes. Comparando os dados da Tabela 3, a sensibilidade da unidade sensorial PDDA/PEDOT:PSS foi realmente mais alta que o IDE *bare* para três de quatro amostras de solo analisadas: foi mais alta para as amostras A-000 arenosa e A-002 arenosa e argilosa. É um resultado notável, considerando a simplicidade e o tempo envolvido no processo de montagem da *língua eletrônica* como um todo, utilizando a tecnologia de impressão 3D.

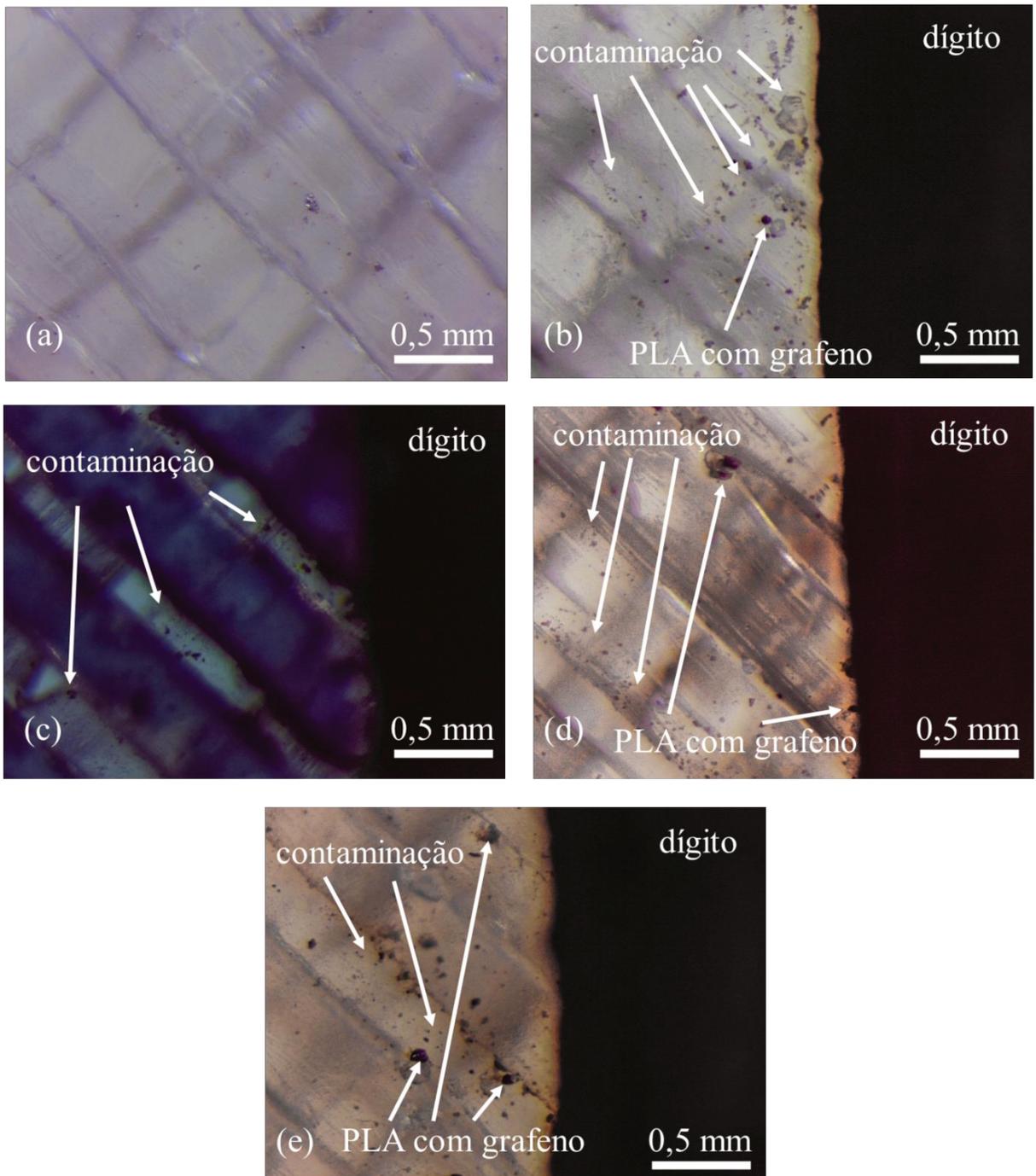
Ainda não existem outros trabalhos que calculam o LD para esse tipo de sensoriamento em solo, portanto esses resultados servem como parâmetro de comparação para trabalhos futuros. Mas podemos ver como a presença dos filmes sobre os eletrodos afetam a sensibilidade das unidades sensoriais e, apesar de serem robustos, as quatro unidades sensoriais juntas têm elevada capacidade de discriminação das amostras, mesmo estando bem diluídas. E os valores

de LD são bons em comparação com as concentrações fornecidas na Tabela 1 dos nutrientes N, P e K fixados nos solos. Em outros trabalhos, o que temos de mais próximo é um sistema potenciométrico de *e-tongue*, no qual fez-se a discriminação de cádmio e íons de chumbo em água e obtiveram um valor de LD para todo o conjunto de sensores da ordem de  $10^{-8}$  mol/L [56].

Com base em todas essas análises, concluímos que nossa *língua eletrônica* para solos tem sensibilidade maior a alguns macronutrientes do que outros. Por exemplo, no caso das amostras NPK o sistema é mais sensível ao potássio do que ao nitrogênio e ao fósforo, talvez pelo uso da argila dopada com potássio na unidade sensorial PDDA/MMt-K. Também observamos o agrupamento de amostras iguais e a diferenciação de amostras distintas, seja com nutrientes diferentes, seja com quantidades diferentes do mesmo nutriente, ou com texturas distintas de solos. São medidas importantes para desenvolvimentos futuros, como uma biblioteca de dados na nuvem que possa ser usada para cruzar com os dados obtidos nas medições para podermos identificar os nutrientes, que possa viabilizar a implementação de dispositivos relativamente simples e baratos para análises de solos voltadas à agricultura de precisão.

### **3.4. Microscopia óptica e perfilometria para identificar contaminação cruzada**

Após as medições dos solos, realizamos as análises das superfícies das unidades sensoriais (aumentadas em 10x) por microscopia óptica, como pode ser visto na Figura 24. Todas as regiões escuras (faixas pretas à direita de cada imagem) são regiões de um dos seis dígitos, em que não é possível enxergar nada, enquanto as regiões à esquerda dos dígitos são regiões do substrato entre os dígitos. Portanto, essas imagens são referentes às superfícies base/eletrodo que ficaram em contato com as dispersões de água/solo. Para facilitar comparações, apenas a Figura 24a não possui a interface base/eletrodo e é referente à uma região fora do alcance da área que efetivamente fica em contanto com as dispersões de solo durante as análises.



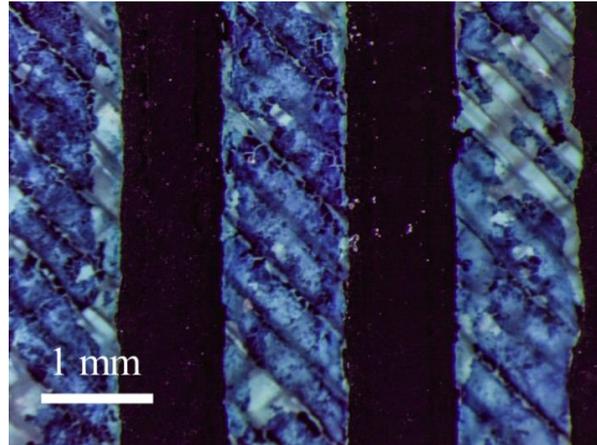
**Figura 24.** Análise por microscopia óptica das quatro unidades sensoriais: (a) e (b) IDE *bare*, (c) PDDA/CuTsPc, (d) PDDA/MMt-K e (e) PDDA/PEDOT:PSS.

Em todas as regiões do substrato estão evidentes as linhas de deposição do PLA via impressão 3D, e utilizamos a Figura 24a para comparar com a Figura 24b, que também é do IDE *bare*. Porém, percebemos que próximo à interface entre o dígito e a base existem vários pontinhos acumulados, que suspeitamos ser resquícios de solo, e observamos uma diferença no foco. O acúmulo de solo comprova que temos em algum nível contaminação cruzada, mas os

gráficos da Figura 12 (resposta da capacitância em função da frequência para a água antes e após medições de solos) indicam que a resposta elétrica não foi significativamente alterada. Nossa conclusão é que a contaminação não foi grande o suficiente para interferir nas medidas elétricas, levando-se em conta a dimensão dos eletrodos que foram impressos. Como mencionado anteriormente, é uma limitação imposta pela abertura do noozle da impressora 3D que inicialmente víamos como um entrave, mas que neste ponto acabou nos auxiliando. Se estivéssemos trabalhando com IDEs em geometrias menores, a sensibilidade do dispositivo seria maior, mas ao mesmo tempo seria menos “robusta” para aplicação em solos.

A Figura 24c retrata o IDE com filme LbL de PDDA/CuTsPc e a imagem parece borrada, mas na verdade ela está focada nos resquícios de solo, estando mais visíveis os grãos entre uma trilha e outra de impressão, ou seja, na penúltima camada de impressão, onde é mais difícil de serem retirados, devido ao pequeno espaço entre as trilhas. Também observamos que o filme aderiu mais em cima da última camada de trilhas de impressão. Os filmes dos outros IDEs (Figuras 24d e 24e) são transparentes e, portanto, não podemos observar esse tipo de comportamento, mas podemos inferir que o mesmo ocorre nos mesmos. A Figura 24d mostra o IDE com PDDA/MMt-K e também verificamos vários pontinhos, assim como na Figura 24e, que é do IDE com PEDOT:PSS.

Na Figura 25 observamos o IDE recoberto com PDDA/CuTsPc aumentado em apenas 2,5x. Como a CuTsPc é azul, conseguimos enxergar o filme sobre as trilhas de PLA transparente. Ele está bastante desgastado, com várias rachaduras e alguns buracos, e acreditamos que essa degradação pode estar relacionada ao fato de termos utilizado esse eletrodo por mais de um ano, enfatizando que as medições de solo consistem em mergulhar os sensores em água com solo em agitação por vários minutos e inúmeras vezes, e que o PLA é biodegradável. Também percebemos alguns buracos pequenos na trilha dos dígitos do IDE, que podem estar relacionados a essa degradação.



**Figura 25.** Análise por microscopia óptica da unidade sensorial PDDA/CuTsPc, ampliada em 2,5x.

Também fizemos perfilometria para analisarmos a superfície das unidades sensoriais. Nós nomeamos cada um dos 6 dígitos de cada IDE como 1°, 2°, ..., 6°, e varremos a superfície no centro de cada um deles por 0,5 mm. As superfícies se mostraram bastante rugosas, portanto, decidimos apresentar apenas os valores da rugosidade média de cada dígito de cada sensor em uma tabela, assim como a diferença entre esses valores e a média deles, ao invés de mostrar os gráficos. A Tabela 4 apresenta esses valores.

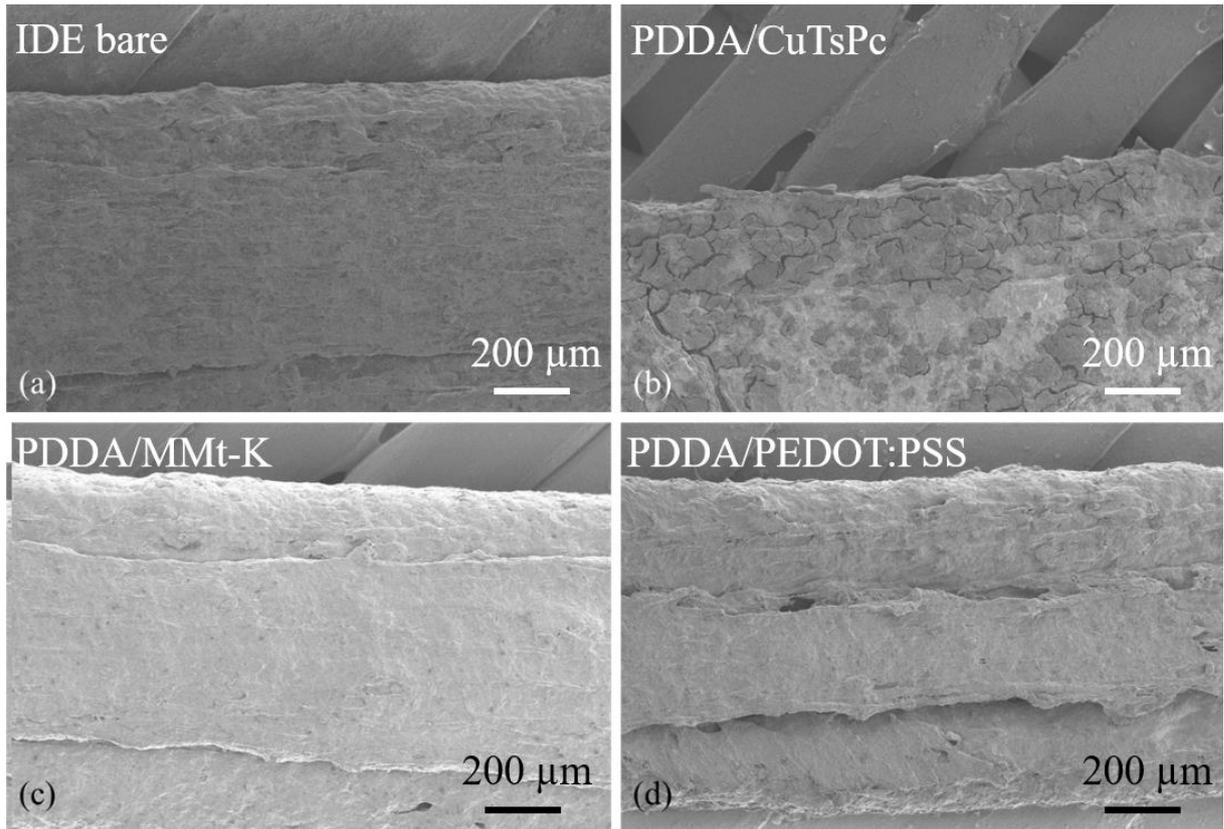
**Tabela 4.** Valores da rugosidade média dos eletrodos em cada dígito, diferença entre maior e menor valor, e média da rugosidade média dos seis dígitos para cada unidade sensorial.

Dígitos	IDE <i>bare</i> ( $\mu\text{m}$ )	CuTsPc ( $\mu\text{m}$ )	MMt-K ( $\mu\text{m}$ )	PEDOT:PSS ( $\mu\text{m}$ )
1°	3,68	3,60	6,89	2,48
2°	2,00	4,33	4,31	1,30
3°	1,92	3,77	2,00	1,61
4°	4,22	2,61	2,52	0,81
5°	2,41	1,19	2,07	1,28
6°	1,34	2,49	2,27	1,07
<b>Diferença</b>	2,9	3,1	4,9	1,7
<b>Média</b>	2,6	3,0	3,3	1,4

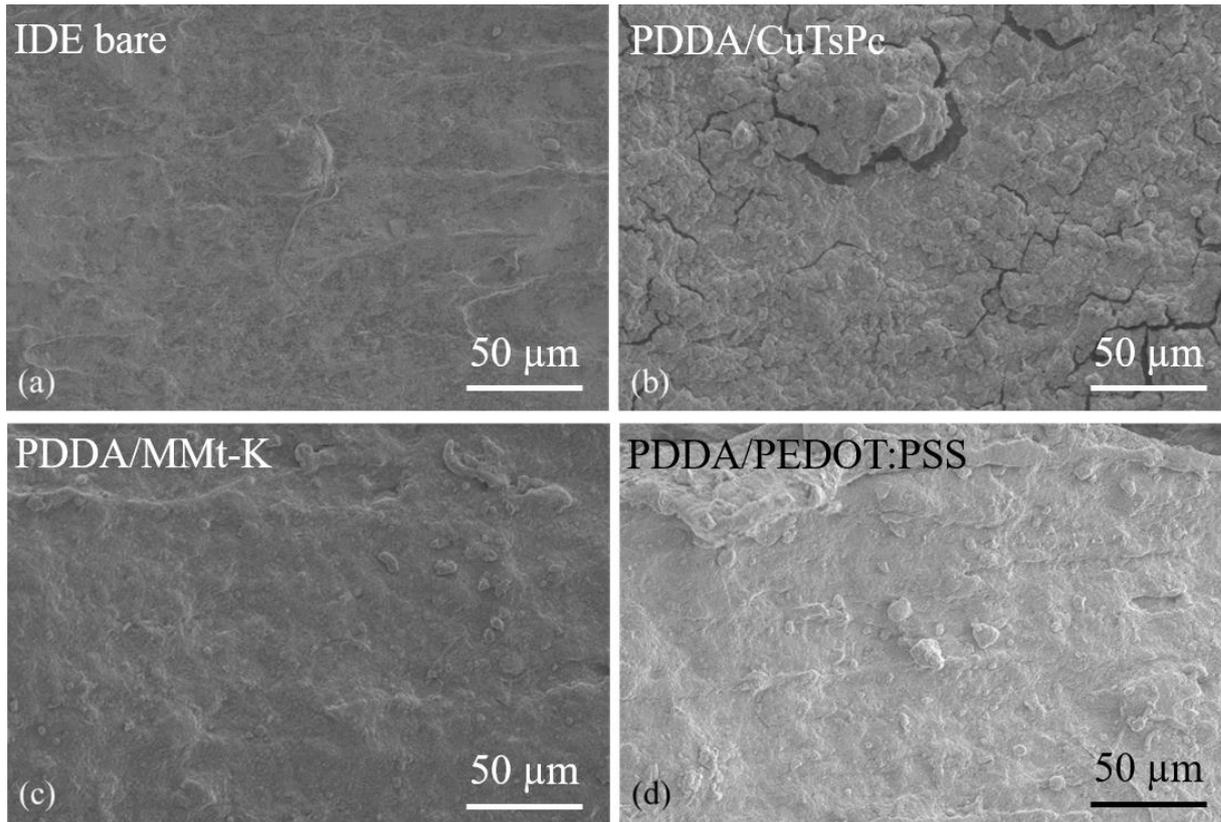
Pela rugosidade média observamos que o sensor com PDDA/MMt-K é a unidade sensorial com maior rugosidade de superfície, enquanto a recoberta com PDDA/PEDOT:PSS é a que apresenta menor rugosidade. Importante ressaltarmos que o valor de ambas está na mesma ordem de grandeza ( $\mu\text{m}$ ), sendo a espessura dos filmes inferior a  $1 \mu\text{m}$ . O IDE *bare* também está nessa faixa de rugosidade, e então concluímos que a rugosidade observada se deve à deposição do PLA dopado com fibras de grafeno durante a impressão 3D e posterior tratamento químico realizado, e que os filmes depositados apenas acompanharam a superfície dos eletrodos impressos.

### **3.5. Microscopia eletrônica para identificar contaminação cruzada**

Para uma melhor compreensão da superfície das unidades sensoriais após seu uso, fizemos imagens com MEV de cada uma delas, apresentadas nas Figuras 26 e 27. A Figura 26 mostra uma região de um dos dígitos de cada um dos quatro eletrodos, além da parte de cima das imagens mostrar um pouco da base, mas são regiões diferentes das da imagem da Figura 24. As imagens não estão muito diferentes entre si, com exceção da Figura 26b, que mostra uma região de um dígito recoberto com PDDA/CuTsPc com muitas rachaduras, assim como foi observado nas imagens de microscopia óptica na Figura 25. A Figura 27 ilustra esses mesmos dígitos da Figura 26, mas ampliada em 500x. Nessas imagens, além das rachaduras da Figura 27b referente ao filme PDDA/CuTsPc, podemos observar que, diferentemente da Figura 27a (IDE *bare*), as Figuras 27b, c e d mostram granulações, que podemos associar à presença dos filmes nanoestruturados. Portanto os filmes de PDDA/MMt-K e PDDA/PEDOT:PSS aparentam não terem sofrido degradação.

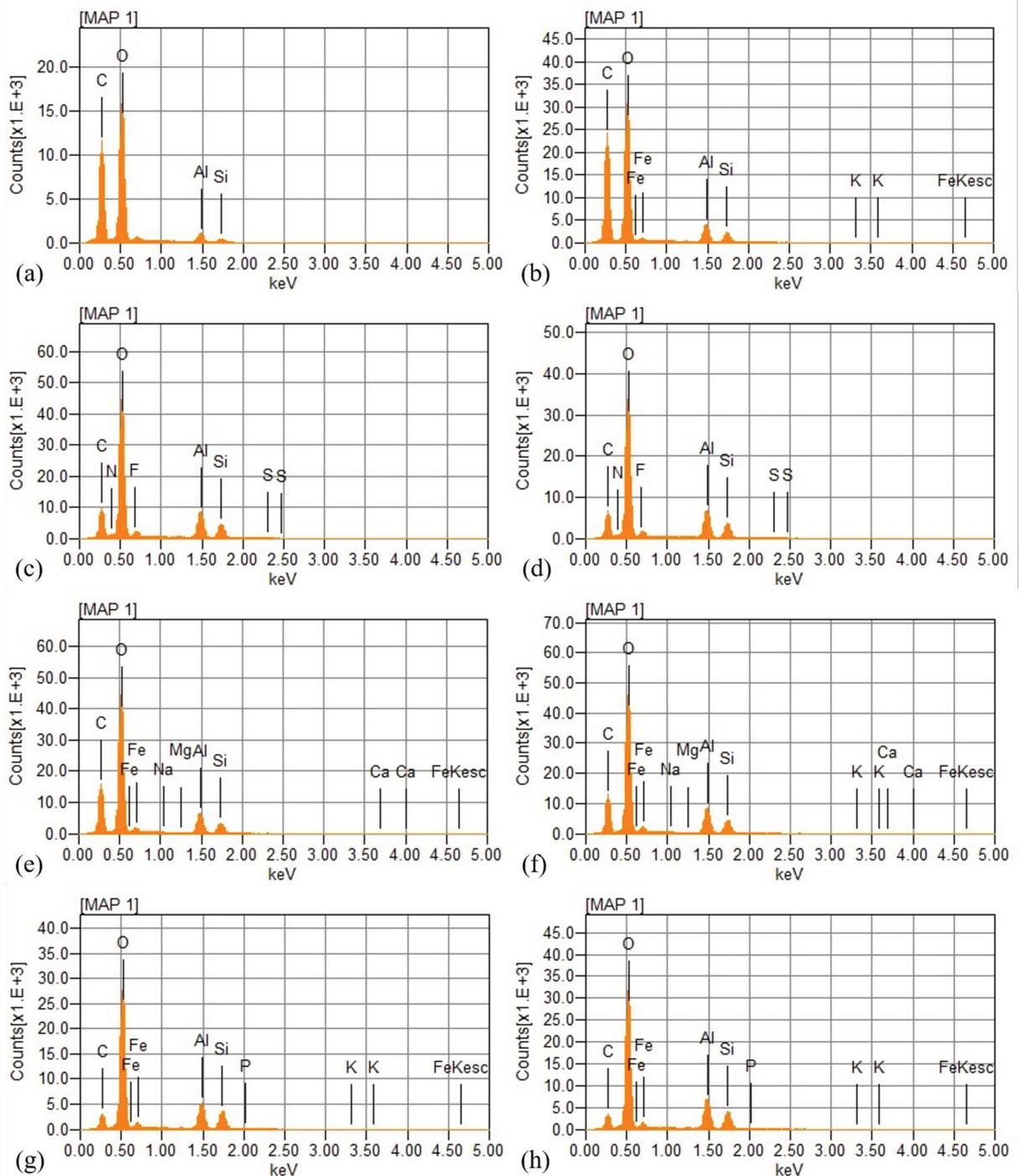


**Figura 26.** Imagens de MEV das quatro unidades sensoriais (a) IDE *bare*, (b) PDDA/CuTsPc, (c) PDDA/MMt-K e (d) PDDA/PEDOT:PSS em 80x de magnificação.



**Figura 27.** Imagens de MEV das quatro unidades sensoriais (a) IDE *bare*, (b) PDDA/CuTsPc, (c) PDDA/MMt-K e (d) PDDA/PEDOT:PSS em 500x.

Com relação à presença de resquícios de solo encontrados em todas as unidades sensoriais na Figura 24, fizemos a análise de EDS, tanto em uma região da base (PLA transparente) entre os dígitos, quanto para uma região dos interdigitados (PLA dopado com grafeno), com os resultados apresentados na Figura 28. As análises das Figuras 28a, c, e e g são referentes ao substrato de cada um dos sensores, que também esteve em contato com a dispersão de solo em água durante as medidas. As Figuras 28b, d, f e h são referentes a uma área em cima do dígito de cada um, mas diferem pouco da parte dos substratos. Em todas, observamos que o elemento mais predominante na superfície é o oxigênio.



**Figura 28.** Análise EDS da (a) base do IDE *bare*, (b) eletrodo do IDE *bare*, (c) base da PDDA/CuTsPc, (d) eletrodo com PDDA/CuTsPc, (e) base do PDDA/MMt-K, (f) eletrodo com PDDA/MMt-K, (g) base do PDDA/PEDOT:PSS e (h) eletrodo com PDDA/PEDOT:PSS.

Nas Figuras 28a e b, referentes ao eletrodo sem filme (IDE *bare*), temos alta contagem em carbono e um pouco de alumínio, silício e ferro, e uma quantidade pequena de potássio,

todas mais altas no gráfico da região do dígito que no substrato. Nas Figuras 28c e d, do sensor com PDDA/CuTsPc, temos uma contagem ainda maior de oxigênio e valores maiores de alumínio, silício, ferro (nesses gráficos está como F, de flúor, mas é porque a posição dele é muito próxima ao Fe, gerando confusão, já que era mais provável encontrarmos Fe que F), nitrogênio e uma pequena quantidade de enxofre. Nas Figuras 28e e f, referentes ao sensor com PDDA/MMt-K, em comparação com o sensor com PDDA/CuTsPc, não aparecem sinais de presença de nitrogênio e nem de enxofre, mas aparecem sinais de sódio, magnésio, cálcio, e, no gráfico da Figura 28f, potássio. Nos gráficos das Figuras 28g e h, do sensor com PDDA/PEDOT:PSS, há a menor contagem para o carbono e um pouco menos de oxigênio em comparação com os outros sensores recobertos com filmes, assim como quantidades um pouco menores de Al, Si e Fe. Porém apresenta um pouco de potássio e fósforo. Portanto, o EDS nos mostrou alguns minerais do solo presentes nas unidades sensoriais (precisaríamos comparar com EDS em unidades sensoriais que nunca foram utilizadas para conseguirmos identificar exatamente quais são de contaminação), o que nos leva a afirmar que muitos pontinhos escuros observados nas microscopias ópticas da Figura 24 realmente são resquícios de terra nas unidades sensoriais. Desta forma, finalizamos tendo em mente que a diminuição da sensibilidade dos eletrodos neste tipo de análise foi positiva para diferenciar as amostras, e o mesmo precisa garantir um mínimo de reprodutibilidade nas análises.

## 4. Conclusões

O sistema de *língua eletrônica* baseado em eletrodos impressos em 3D apresentou boa reprodutibilidade e distinção das amostras de solo arenoso e argiloso enriquecidos com N, P e K. A boa reprodutibilidade foi obtida em todas as amostras analisadas, incluindo medidas realizadas em água após a limpeza dos eletrodos, apesar de um certo nível de contaminação cruzada apontado pelas análises de microscopia óptica e EDS, após o período de mais de um ano de uso contínuo do dispositivo. O sistema foi capaz de distinguir todas as amostras não apenas com macronutrientes distintos, mas também contendo quantidades distintas do mesmo macronutriente e diferentes granulações, além de alta sensibilidade, principalmente da unidade sensorial PDDA/PEDOT:PSS. Para ambos os solos arenosos e argilosos, os gráficos PCA indicaram que a PC1 pode estar relacionada à fertilidade do solo, sendo o conjunto de unidades sensoriais utilizado particularmente sensível aos teores de N e K, em comparação ao P. A análise HCA também proporcionou bom agrupamento entre amostras distintas, com amostras semelhantes agrupadas próximas, com destaque para uma grande separação dos solos com alta concentração de K em relação aos demais, corroborando os resultados de PCA. São passos importantes para a aplicação da técnica em análise de solos, mas alguns desenvolvimentos ainda são necessários. Por exemplo, com as unidades sensoriais aqui utilizadas não somos capazes de detectar macronutrientes específicos, uma vez que exploramos o sistema usando o conceito de seletividade global. Porém, os estudos em curso estão sendo conduzidos considerando a detecção específica de pelo menos um macronutriente adicionado no enriquecimento de solos, através de uma colaboração com pesquisadores da Universidade de São Petersburgo (Rússia).

## Referências

- [1] Embrapa. Visão 2030 - o futuro da agricultura brasileira. *Embrapa*, 212p. (2018).
- [2] © 2019 United Nations, DESA, Population Division. Licensed under Creative Commons license CC BY 3.0 IGO. United Nations, DESA, Populations Division. *World Population Prospects 2019*. Disponível em: <<https://population.un.org/wpp/>>.
- [3] Alves, E. R. de A.; Contini, E.; Gasques, J. G. Evolução da produção e produtividade da agricultura brasileira. In: Albuquerque, A. C. S.; Silva, A. G. da (ed.). *Agricultura tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas*. Brasília, DF: Empraba Informação Tecnológica, v.1, pp. 67-98 (2008). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/153552/1/Evolucao-da-producao.pdf>>.
- [4] Trajetória da agricultura brasileira. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/visao/trajetoria-da-agricultura-brasileira>>.
- [5] 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 Agrônomo de Campinas. Campinas. *Boletim técnico*, **106**. 77p. Instituto Agrônomo (2009).
- [6] Coutinho, M. A. N. **Determinação de teores de NPK no solo por espectroscopia com diferentes formas de preparo da amostra**. 2017. 85p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas (2017).
- [7] Rossel, R. A. V.; Adamchuk, V. I.; Sudduth, K. A.; McKenzie, N. J.; Lobsey, C. Proximal Soil Sensing: An Effective Approach for Soil Measurements in Space and Time. *Advances in Agronomy*, **113**. pp. 243-291 (2011).
- [8] Podrazka, M; Baczynska, E.; Kundys, M.; Jelen, P. S.; Nery E. W. Electronic Tongue — A Tool for All Tastes? *Biosensors*, **8**, no. 3, pp. 1–24 (2018). Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/bios8010003>>.
- [9] Constantino, C. J. L.; Daikuzono, C. M.; Dantas, C. A. R.; Gobbi, A. L.; Oliveira Jr., O. N.; Piazzetta, M. H. O.; Riul Jr., A.; Taylor, D. M.; Volpati, D. Microfluidic electronic tongue. *Sensors and Actuators B: Chemical* **207**, Parte B, pp. 1129-1135 (2015). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.09.112>>.

- [10] Vlasov, Y.; Legin, A.; Rudnitskaya, A.; Di Natale, C.; D'Amico, A. Nonspecific sensor arrays (“electronic tongue”) for chemical analysis of liquids (IUPAC technical report). *Pure Applied Chemistry* **77**, no. 11, pp. 1965–1983 (2005). Disponível em: <<https://doi.org/10.1351/pac200577111965>>.
- [11] Riul Jr., A.; Dantas, C. A. R.; Miyazaki, C. M.; Oliveira, O. N. Recent advances in electronic tongues. *Analyst*, **135**, no. 10, pp. 2481–2495 (2010). Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/C0AN00292E>>.
- [12] Braunger M. L., Shimizu, F. M.; Jimenez, M. J. M.; Amaral, L. R.; Piazzetta, M. H. O.; Gobbi, A. L.; Magalhães, P. S. G.; Rodrigues, V.; Oliveira Jr, O. N.; Riul Jr., A. Microfluidic electronic tongue applied to soil analysis. *Chemosensors*, **5**(2), no. 14, pp. 1–10 (2017). Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/chemosensors5020014>>.
- [13] Mimendia, A.; Gutiérrez, J. M.; Alcañiz, J. M.; del Valle, M. Discrimination of soils and assessment of soil fertility using information from an ion selective electrodes array and artificial neural networks. *Clean - Soil, Air, Water*, **42**, no. 12, pp. 1808–1815 (2014). Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/clen.201300923>>.
- [14] Richardson, J. J.; Bjormalm, M.; Caruso, F. Technology-driven layer-by-layer assembly of nanofilms. *Science* **348**, 6233 (2015). Disponível em: <<https://doi.org/10.1126/science.aaa2491>>.
- [15] Paterno, L. G.; Mattoso, L. H. C.; Oliveira Jr., O. N. Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: preparação, propriedades e aplicações. *Química Nova*, **24**, no. 2, pp. 228–235 (2001).
- [16] Ferreira, M. M. C. Quimiometria: Conceitos, Métodos e Aplicações. Campinas, SP: Editora da Unicamp (2015).
- [17] Shlens, J. A Tutorial on Principal Component Analysis. (2014).
- [18] Souza, A. M.; Vicini, L. Análise multivariada: da teoria à prática. Editora UFSM. (2005).
- [19] Lvova, L.; Nadporozhskaya. M. Chemical sensors for soil analysis: principles and applications. Elsevier Inc. (2017)
- [20] Riul Jr., A. A Ciência Imitando o Corpo Humano. *Physicae*, **3**, no. 3 (2003). Disponível em: <<https://doi.org/10.5196/physicae.3.6>>.
- [21] Daikuzono, C. M.; Shimizu, F. M.; Manzoli, A.; Riul, Jr., A.; Piazzetta, M. H. O.; Gobbi,

- A. L.; Correa, D. S.; Paulovich, F. V.; Oliveira Jr., O. N. Information Visualization and Feature Selection Methods Applied to Detect Gliadin in Gluten-Containing Foodstuff with a Microfluidic Electronic Tongue. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **9**, no. 23, pp. 19646–19652 (2017). Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acsami.7b04252>>.
- [22] N Carbó, N.; Carrero, J. L.; Castillo, F. J. G.; Tormos, I.; Olivas, E.; Folch, E.; Fillol, M. A.; Soto, J.; Mániz, R. M.; Bisbal, M. C. M. Quantitative Determination of Spring Water Quality Parameters via Electronic Tongue. *Sensors*, **18**, p. 40 (2018). Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/s18010040>>.
- [23] Comino, C. S.; Hernández, C. G.; Cabezón, C. G.; Méndez, M. L. R. Discrimination of milks with a multisensor system based on layer-by-layer films. *Sensors*, **18**, no. 8, pp. 1–12 (2018). Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/s18082716>>.
- [24] Daikuzono, C. M.; Delaney, C.; Morrin, A.; Diamond, D.; Florea, L.; Oliveira, O. N. Paper based electronic tongue - a low-cost solution for the distinction of sugar type and apple juice brand. *Analyst*, **144**, no. 8, pp. 2827–2832 (2019). Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/c8an01934g>>.
- [25] de Moraes, T. C. B.; Rodrigues, D. R.; Souto, U. T. C. P.; Lemos, S. G. A simple voltammetric electronic tongue for the analysis of coffee adulterations. *Food Chemistry*, **273**, pp. 31–38 (2019). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.136>>.
- [26] Lvova, L.; Gonçalves, C. G.; Petropoulos, K.; Micheli, L.; Volpe, G.; Kirsanov, D.; Legin, A.; Viaggiu, E.; Congestri, R.; Guzzella, L.; Pozzoni, F.; Palleschi, G.; Di Natale, C.; Paolesse, R. Electronic tongue for microcystin screening in waters. *Biosensors and Bioelectronics*, **80**, pp. 154–160 (2016). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.01.050>>.
- [27] Ferreira, N. S.; Cruz, M. G. N.; Gomes, M. T. S. R.; Rudnitskaya, A. Potentiometric chemical sensors for the detection of paralytic shellfish toxins. *Talanta*, **181**, pp. 380–384 (2018). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.031>>.
- [28] Shimizu, F. M.; Braunger, M. L.; Riul Jr., A. Heavy Metal/Toxins Detection Using Electronic Tongues. *Chemosensors*, **7**, no. 3, p. 36 (2019). Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/chemosensors7030036>>.
- [29] Facure, M. H. M.; Mercante, L. A.; Mattoso, L. H. C.; Correa, D. S. Detection of trace

- levels of organophosphate pesticides using an electronic tongue based on graphene hybrid nanocomposites. *Talanta*, **167**, pp. 59–66 (2017). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.02.005>>.
- [30] Qiao, L.; Qian, S.; Wang, Y.; Lin, H. A colorimetric sensor array based on sulfuric acid assisted KMnO<sub>4</sub> fading for the detection and identification of pesticides. *Talanta*, **181**, pp. 305–310 (2018). Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.029>>.
- [31] F. Wang, X. Zhang, Y. Lu, J. Yang, W. Jing, S. Zhang, Y. Liu, Continuously evolving ‘chemical tongue’ biosensor for detecting proteins, *Talanta*, **165**, pp. 182–187 (2017). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.054>>.
- [32] Saidi, T.; Moufid, M.; Zaim, O.; El Bari, N.; Bouchikhi, B. Voltammetric electronic tongue combined with chemometric techniques for direct identification of creatinine level in human urine. *Measurement*, **115**, pp. 178–184 (2018). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.measurement.2017.10.044>>.
- [33] Solovieva, S.; Karnaukha, M.; Panchuk, V.; Andreev, E.; Kartsova, L.; Bessonova, E.; Legin, A.; Wang, P.; Wan, H.; Jahatspanian, I.; Kirsanov, D. Potentiometric multisensor system as a possible simple tool for non-invasive prostate cancer diagnostics through urine analysis. *Sensors and Actuators B: Chemical* **289**, pp. 42–47 (2019). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.03.072>>.
- [34] Alessio, P.; Constantino, C. J. L.; Daikuzono, C. M.; Riul Jr. A.; de Oliveira, O. N. Analysis of Coffees Using Electronic Tongues. *Electronic Noses Tongues in Food Science*, pp. 171–177 (2016). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800243-8.00017-2>>.
- [35] Mimendia, A.; Gutiérrez, J.M.; Leija, L.; Hernández, P.R.; Favari, L.; Muñoz, R.; del Valle, M. A review of the use of the potentiometric electronic tongue in the monitoring of environmental systems. *Environmental Modelling & Software* **25**, pp. 1023–1030 (2010). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2009.12.003>>.
- [36] V. Gaál. **Construção de impressora 3D de dupla deposição e impressão de eletrodos para análises eletroquímicas**. 85p. Monografia - Instituto de Física "Gleb Wataghin", Universidade Estadual de Campinas (2017).
- [37] G. Gaál. **Frabricação de trilhas condutoras através de tecnologia de impressão 3D**. 68p. Dissertação (Mestrado em Física) - Instituto de Física "Gleb Wataghin",

- Universidade Estadual de Campinas (2017).
- [38] Garlotta, D. A Literature Review of Poly(Lactic Acid). *J. Polym. Environ.*, **9**, no. 2, pp. 63–84 (2001). Disponível em: <<https://doi.org/10.1023/A:1020200822435>>.
- [39] Martins, M. V. A.; Pereira, A. R.; Luz, R. A. S.; Iost, R. M.; Crespilho, F. N. Evidence of short-range electron transfer of a redox enzyme on graphene oxide electrodes. *Physical Chemistry Chemical Physics*, **16**, no. 33, pp. 17426–17436 (2014). Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/C4CP00452C>>.
- [40] Decher, G. Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites. *Science*, **277**, pp. 1232–1237 (1997). Disponível em: <<https://doi.org/10.1126/science.277.5330.1232>>.
- [41] Bruening, M.; Dotzauer, D. Just spray it. *Nature Materials*, Nature Publishing Group, **8**, no. 6, pp. 449–450 (2009). Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nmat2454>>.
- [42] Sigma-Aldrich, 2020. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com>>.
- [43] De Paiva, L. B.; Morales, A. R.; Paulo, S. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. *Cerâmica*, **54**, pp. 213–226 (2008).
- [44] Storti, F. C. **Estudo da arquitetura molecular de filmes layer-by-layer de ftalocianina tetrasulfonada de cobre**. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Presidente Prudente (2008).
- [45] Lopes, C. W.; Penha, F. G. Síntese e caracterização de argilas organofílicas contendo diferentes teores do surfactante catiônico brometo de hexadeciltrimetilamônio. *Química Nova*, **34**, no. 7, pp. 1152–1156 (2011).
- [46] Callister Jr., W. D.; Rethwisch, D. G. *Materials Science and Engineering: An Introduction*, 9th ed. New York, NY: *John Wiley & Sons*.
- [47] Saccardo, M. C. **Desenvolvimento de filmes transparentes condutores baseados em pedot**. 61p. Trabalho de Conclusão de Curso - Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina (2017).
- [48] Braunger, M. L.; Fier, I.; Rodrigues, V.; Arratia, P. E.; Riul Jr., A. Microfluidic mixer with automated electrode switching for sensing applications. *Chemosensors*, **8**, no. 13,

- pp. 1–10 (2020). Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/chemosensors8010013>>.
- [49] Silva, T. A. **Automação de um sistema para fabricação de filmes ultrafinos nanoestruturados através da técnica de automontagem**. 42p. Monografia - Instituto de Física "Gleb Wataghin", Universidade Estadual de Campinas (2015).
- [50] Antonacci, A.; Arduini, F.; Moscone, D.; Palleschi, G.; Scognamiglio, V. Nanostructured (Bio)sensors for smart agriculture. *Trends in Analytical Chemistry*, **98**, pp. 95–103 (2018). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.10.022>>.
- [51] Coutinho, M. A. N.; Alar,i F. O.; Ferreira, M. M. C.; Amaral, L. R. Influence of soil sample preparation on the quantification of NPK content via spectroscopy. *Geoderma*, **338**, pp. 401–409 (2019). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.12.021>>.
- [52] Dantas, C. A. R. **Fabricação de dispositivos para aplicação de conceitos de microfluídica a uma língua eletrônica**. 101p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Materiais) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Sorocaba (2013).
- [53] Taylor, D. M.; Macdonald, A.G. AC admittance of the metal/insulator/electrolyte interface. *Journal of Physics D. Applied Physics*, **20**, no.10, 1277–1283 (1987). disponível em: <<https://doi.org/10.1088/0022-3727/20/10/010>>.
- [54] Currie, L. A. Detection and quantification limits: origins and historical overview. *Analytica Chimica Acta*, **391**, pp. 127–134 (1999). Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(99\)00105-1](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(99)00105-1)>.
- [55] Shrivastava, A.; Gupta, V. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists*, **2**, no. 1, p. 21 (2011). Disponível em: <<https://doi.org/10.4103/2229-5186.79345>>.
- [56] Legin, A. V.; Rudnitskaya, A.M.; Vlasov, Y. G.; Di Natale, C.; D’Amico, A. The features of the electronic tongue in comparison with the characteristics of the discrete ion-selective sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **58**, pp. 464–468, (1999). Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(99\)00127-6](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(99)00127-6)>.