

Modelagem não linear da extração de zinco de um solo tratado com lodo de esgoto

Edcarlos Miranda de Souza¹, Joel Augusto Muniz², Giuliano Marchi^{3*} e Luiz Roberto Guimarães Guilherme⁴

¹Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil. ²Departamento de Ciências Exatas, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. ³Embrapa Cerrados, BR 020, km 18, Cx. Postal 08223, 73310-970, Planaltina, Distrito Federal, Brasil. ⁴Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: giuliano.marchi@cpac.embrapa.br

RESUMO. A predição da disponibilidade de elementos-traço para plantas com o uso de extratores é dificilmente obtida. Por essa razão, um método de extração sucessiva que simulou a solução da rizosfera com misturas de ácidos orgânicos sintéticos para acessar a disponibilidade potencial desses elementos em longo prazo foi anteriormente proposto. Com o emprego deste método, dados de extrações sucessivas de zinco pelas misturas de ácidos orgânicos, bem como por extratores usados na rotina (Mehlich I, DTPA e NH_4OAc) foram ajustados por meio de um modelo não-linear baseado nos mecanismos cinéticos de primeira ordem. A partir do ajuste deste modelo, o presente trabalho realizou um estudo rigoroso sobre as propriedades estatísticas dos estimadores, fazendo um esboço da não-linearidade do modelo, tendo como referência medidas de curvatura. O objetivo foi verificar se as propriedades assintóticas dos estimadores seriam válidas, considerando o tamanho da amostra realizada, para o ajuste do modelo aos dados da extração sucessiva de zinco. A inferência clássica, baseada na aproximação linear, foi considerada, tendo, como técnica alternativa, a metodologia *bootstrap*. No geral, a metodologia da aproximação linear, a técnica *bootstrap* e as medidas de curvatura validaram a precisão dos resultados inferenciais obtidos na predição da disponibilidade de zinco.

Palavras-chave: regressão não-linear, elementos-traço, lodo de esgoto, *bootstrap*, curvatura de Bates e Watts.

ABSTRACT. Non-linear modeling of zinc extracted from a sewage sludge-treated soil. The prediction of trace element availability to plants using chemical extractants is hard to achieve. For this reason, a successive extraction method which simulated a rhizosphere solution employing synthetic organic acids was previously proposed. The method was developed in order to access the long term potential availability of trace elements to plants. Data from successive zinc extractions with organic acid mixtures, as well as with routine extractants (Mehlich I, DTPA, and NH_4OAc) adjusted to a non-linear model based in first order kinetic mechanisms. The aim of the present study was to verify whether the estimator asymptotic properties for that adopted non-linear model were valid. Classical methodology for sampling and likelihood was used, with the bootstrap methodology as an alternative. Zinc extractants composed of organic acid mixtures presented similar inferential results; however, these results were different from those obtained with routine extractants. Data adjustment with routine extractants presented narrow confidence bands, suggesting that predictions with these extractants were considered precise within the studied interval, except for data obtained with NH_4OAc . In general, zinc availability prediction inferential results were precisely adjusted to the non-linear model as set by the methodologies used: linear approximation, bootstrap, and curvature measure.

Key words: non-linear regression, trace element, sewage sludge, bootstrap, Bates and Watts curvature.

Introdução

Os efeitos toxicológicos de elementos-traço, como cádmio, cromo, zinco, entre outros, em humanos são bem conhecidos, todavia a possibilidade de se realizar predições da disponibilidade desses elementos para plantas a

partir da extração do solo de forma confiável tem sido difícil de se concretizar (GARRET et al., 1998). Alguns modelos de predição para se estimar a absorção de elementos-traço por plantas têm sido usados para essa finalidade (KOO et al., 2006). Entretanto, avaliações da relação entre uma variável dependente, como a concentração de um elemento-

traço extraído de um solo, com uma ou mais variáveis independentes, como o número de extrações realizadas ao longo do tempo, podem ser realizadas por meio dos modelos de regressão lineares ou não-lineares (MAZUCHELI; ACHCAR, 2002). Tais modelos são equações matemáticas que podem ser ajustadas a resultados experimentais para se avaliar ou prever fenômenos observados e auxiliar no desenvolvimento de práticas adequadas de manejo de solo (PEREIRA et al., 2005).

Em qualquer tipo de modelagem, além do ajuste realizado, é necessário fazer inferências sobre os parâmetros em estudo. A inferência nos modelos não-lineares ocorre por aproximação em Série de Taylor na região próxima às estimativas, e essa aproximação pode ser considerada boa ou ruim dependendo do modelo a ser estudado, delineamento experimental e conjunto de dados. As propriedades dos estimadores não-lineares, obtidos por métodos iterativos, como, por exemplo, o método de Gauss-Newton, são semelhantes às dos modelos lineares quando o tamanho da amostra é suficientemente grande (BATES; WATTS, 1988). No entanto, para amostras pequenas, estas propriedades podem não ser 'herdadas' e os resultados numéricos apresentados pela maioria dos softwares estatísticos não terão validade inferencial com respaldo na teoria, tendo em vista que as propriedades de estimação não-linear são somente válidas assintoticamente.

Para quantificar o quão distante a modelagem não-linear está em herdar as propriedades já existentes em regressão linear, Bates e Watts (1980) formularam uma metodologia capaz de medir matematicamente este distanciamento. Outros estudos sobre o tema já haviam sido realizados (e.g., BEALE, 1960; BOX, 1971). No entanto, a metodologia proposta por Beale (1960) tendia a apresentar que um modelo está próximo de ser linear, mesmo quando um distanciamento considerável estava presente enquanto a apresentada por Box (1971) se preocupava apenas com o viés dos estimadores não-lineares.

Quando as hipóteses da aproximação linear assintótica no modelo de regressão não-linear se tornam questionáveis, possivelmente pelo tamanho reduzido da amostra ou pela curvatura excessiva da superfície-resposta, a técnica *bootstrap* de estimação se torna atrativa, não somente como alternativa para o processo inferencial, mas também como ferramenta de diagnóstico (SOUZA, 1998). Desse modo, torna-se possível estudar as propriedades distribucionais dos estimadores de mínimos

quadrados a partir de simulações, que, para Ratkowsky (1983), é a melhor maneira de analisá-las, sugerindo, para isso, o uso do *bootstrap* paramétrico.

Na metodologia da aproximação linear, as medidas de curvatura e a técnica *bootstrap* podem ser aplicadas em pesquisas que possuam parâmetros não-lineares, que precisam ser avaliados estatisticamente para a obtenção de resultados inferenciais válidos e confiáveis para a realização de previsões em longo prazo, como aqueles capazes de fornecer informações sobre a concentração de elementos-traço nos solos, principalmente aqueles tratados com resíduos, e sua potencial disponibilidade para as plantas (ANDERSON, 1975). A disponibilidade potencial de elementos-traço em longo prazo de solos tratados com lodo de esgoto pode ser estimada, com auxílio de modelos não-lineares, em estudos de extrações sucessivas com o uso de misturas de ácidos orgânicos que imitam a composição da rizosfera de plantas (KOO et al., 2006; PIRES et al., 2007).

No presente estudo foram avaliadas as aproximações lineares obtidas pelos métodos iterativos de um modelo usado para descrever a extractabilidade de zinco de solos tratados com lodo de esgoto por sete extratores. Foram analisadas as propriedades estatísticas dos estimadores, tais como curvatura da superfície resposta, normalidade dos erros e viés. Além disso, foram determinados intervalos de confiança, estimativas de erros-padrão e bandas de confiança para as respostas esperadas. Para o estudo da não-linearidade do modelo foi considerada a metodologia de Bates e Watts (1980) e a técnica *bootstrap* paramétrico (SOUZA, 1998; RATKOWSKY, 1983) para avaliação e diagnóstico.

Material e métodos

Os dados deste trabalho provêm de experimentos realizados nos Laboratórios de Ciências Ambientais da Universidade da Califórnia, em Riverside, EUA, entre os anos de 2003 e 2004. Amostras de solo usado neste experimento - classificado como Kandiudox - foram coletadas de um experimento realizado em Jaguariúna, Estado de São Paulo, Brasil, 22°41'S, 47°W. Estas amostras foram analisadas para se avaliar suas características físicas e químicas: $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} = 5,5$; Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} (1 mol L⁻¹ KCl) = 27,5; 8,5 e 1 mmol_c dm⁻³, respectivamente; P (Mehlich I) = 3,5 mg dm⁻³; K^+ = 1,51 mmol_c dm⁻³; acidez titulável extraída com 0,5 mol L⁻¹ de acetato de cálcio com pH 7.0 (H^+Al^{3+}) = 35 mmol_c dm⁻³, matéria orgânica (método Walkley - Black) = 25,5 g kg⁻¹; argila = 450 g kg⁻¹.

Um lodo de esgoto obtido da Estação de Tratamento de Lodo de Esgoto da cidade de Franca,

Estado de São Paulo, Brasil, foi aplicado uma vez ao ano durante cinco anos consecutivos. As doses aplicadas a cada ano foram: 24,11; 26,03; 30,13; 35,45 e 34,80 t ha⁻¹ massa seca, respectivamente, acumulando 150,53 t ha⁻¹. Amostras do solo tratado com lodo de esgoto foram coletadas e digeridas, utilizando-se o método da agência de proteção ambiental dos Estados Unidos, USEPA 3052 (HCl-HNO₃-HF, digestão por micro-ondas). A concentração total do elemento-traço Zn foi de 71,74 mg kg⁻¹.

Sete extratores foram usados para se extrair, sucessivamente, os elementos-traço das amostras de solo. Quatro extratores foram compostos por ácidos orgânicos de baixo peso molecular (0,1 mol_c L⁻¹): i) mistura de ácidos orgânicos modificada (MOAS); ii) mistura de ácidos orgânicos simplificada (SOAS); iii) ácido láctico e iv) ácido acético. Os extratores usados nas análises de rotina: v) Mehlich I (NELSON et al., 1953); vi) acetato de amônio - NH₄OAc (URE et al., 1993) e vii) DTPA (LINDSAY; NORVELL, 1978) foram também utilizados para extração dos elementos-traço.

Os extratores compostos de ácidos orgânicos e os de análise de rotina foram utilizados para, sucessivamente, extrair-se os elementos-traço do solo. A tendência da remoção cumulativa do metal com respeito ao número de extrações foi ajustada por um modelo de cinética de primeira ordem (modelo exponencial de elevação máxima), em que a dessorção cumulativa de um íon das partículas do solo é dada por (BERMOND; GHESTEM, 2001):

$$C_t = C_i(1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

em que:

A variável resposta C_t representa os metais cumulativos removidos (mg kg⁻¹) para a extração t ; o parâmetro C_i é a quantidade de metal extraído até o equilíbrio (mg kg⁻¹); a variável independente t é o número de extrações (\mathcal{E}); o parâmetro k é uma constante positiva, representando a taxa de extração (\mathcal{E}^{-1}), ou seja, a constante k indica a velocidade com que a extração é realizada.

Para as análises estatísticas, foi considerado o erro aditivo (ξ_t):

$$C_t = C_i(1 - e^{-kt}) + \xi_t \quad (2)$$

com ξ_t sendo o erro aleatório identicamente, normal e independentemente distribuído, com média zero e variância constante σ^2 .

O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso com três repetições. As extrações sucessivas representaram os tratamentos. Para a estimação dos parâmetros do modelo não-linear foi utilizada a metodologia estatística clássica, com o uso do método iterativo de Gauss-Newton (BATES; WATTS, 1988). As bandas de confiança aproximada para as respostas esperadas, a região de confiança conjunta para os parâmetros, os intervalos de confiança marginais, as estimativas para os parâmetros, o coeficiente de determinação e os gráficos foram calculados, utilizando-se rotina ou procedimento específico desenvolvidos para o software R versão 2.7.0.

Com o objetivo de se investigar a não-linearidade do modelo, foi utilizada a medida de curvatura de Bates e Watts (1980), já implementada no software R versão 2.7.0, que serve para indicar o quão distante está um modelo não-linear de um modelo linear. Os resultados da medida de curvatura são considerados próximos à linear quando os valores dessas medidas não ultrapassarem 0,2 (BATES; WATTS, 1980).

Quando o modelo apresenta uma curvatura excessiva da superfície-resposta, a simulação *bootstrap* é recomendada para a validação ou não dos resultados (SOUZA, 1998; MAZUCHELI; ACHCAR, 2002). No estudo de simulação, o ‘verdadeiro’ valor de C_i , k e σ^2 foi considerado como suas estimativas de mínimos quadrados \hat{C}_i , \hat{k} e $\hat{\sigma}^2$. Cada conjunto de dados consistiu de 45 pares de elementos: (t_1, C_1) , (t_2, C_2) , (t_{45}, C_{45}) , e, respectivamente, os erros $(\xi_1, \xi_2, \dots, \xi_{45})$ foram obtidos pseudo-aleatoriamente pelo software computacional R versão 2.7.0. Esse novo conjunto de dados foi, então, ajustado pelos mínimos quadrados para a obtenção de uma ‘nova’ estimativa de C_i e k . Cinco mil conjuntos de dados do mesmo modo foram gerados e forneceram 5.000 estimativas \hat{C}_i^* e \hat{k}^* de \hat{C}_i e \hat{k} (parâmetros na simulação).

Com essas 5.000 estimativas foram construídos histogramas de distribuição de frequência, calculados o viés e os intervalos de confiança *bootstrap*. Foram também encontrados os primeiros quatro momentos amostrais centrados na média dessas 5.000 estimativas e as quantidades derivadas deles para serem apresentadas em tabelas, com o objetivo da realização do teste de assimetria e de curtose assintótico. Os momentos amostrais foram obtidos com o uso da fórmula (MOOD et al., 1974):

$$m_r = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^r}{n} \quad (3)$$

em que:

$n = 5000$, $X_i - \bar{X}$ é o desvio de cada estimativa em relação à média *bootstrap* e m_r o r -ésimo momento amostral. Com base nos momentos amostrais, foram calculadas as quantidades de interesse $g_1 = m_3/m_2^{3/2}$ para se avaliar a assimetria e $g_2 = m_4/m_2^2 - 3$ para se avaliar o excesso de curtose. Os testes foram realizados tendo em vista que $g_1 \sim N(0, (6/5000)^{1/2})$ e $g_2 \sim N(0, (24/5000)^{1/2})$ (SNEDECOR; COCHRAN, 1980).

O viés *bootstrap* é a diferença entre as médias dos valores obtidos via simulação e os valores \hat{C}_i e \hat{k} . O resultado do viés *bootstrap* foi apresentado percentualmente e testado com base na distribuição exposta em Souza (1998), adaptada para o estudo da seguinte forma:

$$z_i = \frac{\bar{C}_i - \hat{C}_i}{\sqrt{\text{Var}(\hat{C}_i)}} \sim N(0,1) \quad \text{e} \quad z_i = \frac{\bar{k} - \hat{k}}{\sqrt{\text{Var}(\hat{k})}} \sim N(0,1) \quad (4)$$

Os intervalos de confiança *bootstrap* foram gerados por meio do método percentil t. Este método tem por base, unicamente, os quantis e outras medidas da distribuição *bootstrap* do estimador de interesse (SOUZA, 1998).

Resultados e discussão

A análise dos dados obtidos pelas extrações sucessivas de zinco das amostras de solo permitiu verificar que todos os parâmetros do modelo foram significativos, pois se encontravam dentro do intervalo de confiança assintótico de 95% que, por sua vez, não incluía a constante zero (Tabela 1).

O coeficiente de determinação obtido com o ajuste dos dados de extração sucessiva de zinco pelos extratores ácido acético, lático, Mehlich I, MOAS, NH_4OAc e SOAS são considerados elevados. O extrator DTPA apresentou, dentre todos os extratores, o menor coeficiente de determinação ($R^2 = 52\%$).

Todos os valores das correlações entre os parâmetros foram negativos, indicando que, se determinado extrator tem elevada taxa de extração, então, a quantidade de metal extraído deve se estabilizar com menos extrações.

Tabela 1. Estimativas dos parâmetros C_i e k baseadas na inferência por aproximação linear, erro-padrão da estimativa (E.P.E), valor de p para o teste t , intervalo de confiança (IC) de 95% para os parâmetros, estimativa do coeficiente de correlação entre as estimativas dos parâmetros e coeficiente de determinação (R^2) para a descrição de dados da extração sucessiva de zinco de um solo tratado com lodo de esgoto por diferentes extratores.

Extrator	Parâmetro	Estimativa	E.P.E.	Valor-P	IC(95%)	Correlação	R^2
Acético	C_i	26,95	0,21	< 2.10 ⁻¹⁶	[26,51;27,37]	-0,41	0,97
	k	0,37	0,01	< 2.10 ⁻¹⁶	[0,34;0,39]		
DTPA	C_i	21,55	0,19	< 2.10 ⁻¹⁶	[21,14;21,97]	-0,27	0,52
	k	1,33	0,11	< 8.10 ⁻¹⁵	[1,09;1,66]		
Lático	C_i	34,92	0,39	< 2.10 ⁻¹⁶	[34,12;35,75]	-0,36	0,90
	k	0,48	0,03	< 2.10 ⁻¹⁶	[0,43;0,54]		
Mehlich I	C_i	35,41	0,19	< 2.10 ⁻¹⁶	[35,02;35,79]	-0,27	0,81
	k	1,27	0,07	< 2.10 ⁻¹⁶	[1,14;1,41]		
MOAS	C_i	31,94	0,30	< 2.10 ⁻¹⁶	[31,33;32,57]	-0,37	0,94
	k	0,45	0,02	< 2.10 ⁻¹⁶	[0,41;0,49]		
NH_4OAc	C_i	10,97	0,39	< 2.10 ⁻¹⁶	[10,23;11,90]	-0,67	0,97
	k	0,12	0,01	< 2.10 ⁻¹⁶	[0,10;0,14]		
SOAS	C_i	32,27	0,33	< 2.10 ⁻¹⁶	[31,55;33,01]	-0,37	0,92
	k	0,46	0,02	< 2.10 ⁻¹⁶	[0,41;0,51]		

Pelo estudo da não-linearidade do modelo para cada conjunto de dados foi possível avaliar o quão distante estão as propriedades dos estimadores não-lineares de suas propriedades assintóticas, ou seja, o quão próximo está um modelo não-linear de um modelo linear (Tabela 2). A curvatura intrínseca foi menor do que 0,1 para todos os extratores, indicando que o local da solução na vizinhança das estimativas é relativamente plano ($\approx 95\%$), segundo Bates e Watts (1988).

Tabela 2. Medidas de curvatura quadrática média (RMS) para a descrição da extração sucessiva de zinco de um solo tratado com lodo de esgoto por diferentes extratores¹.

Extrator	Curvatura intrínseca	Curvatura de efeito parâmetro
Acético	0,03	0,14
DTPA	0,09	0,26
Lático	0,06	0,20
Mehlich I	0,05	0,14
MOAS	0,05	0,17
NH_4OAc	0,03	0,92
SOAS	0,06	0,19

¹Valores calculados, segundo Bates e Watts (1980).

A curvatura de efeito parâmetro apresentou resultado entre 0,1 e 0,3 para os dados de Zn obtidos pela extração sucessiva do solo por todos os extratores, exceto para o NH_4OAc , que foi de 0,92 (Tabela 2). Esse resultado indica que, segundo Bates e Watts (1988), para os extratores: acético, DTPA, lático, Mehlich I, MOAS e SOAS, a aproximação das 'coordenadas uniformes' é em torno de 90% para um modelo linear. Isso significa que a disposição com que os parâmetros aparecem no modelo não prejudica demasiadamente as inferências pela

aproximação linear, mesmo que o tamanho da amostra seja pequeno.

O ajuste dos dados obtidos com o uso do extrator NH₄OAc apresentou curvatura intrínseca de valor considerado baixo, segundo Bates e Watts (1988), indicando que a superfície de resposta esperada é próxima de um plano na vizinhança das estimativas. No entanto, o ajuste dos dados por este extrator resultou em uma curvatura de efeito parâmetro mais elevada que pelos outros extratores, indicando que: ou a disposição com que os parâmetros aparecem no modelo é inadequada, ou que o modelo pode ser inadequado para este conjunto de dados. Assim, como as propriedades dos estimadores referentes a este modelo neste conjunto de dados estão muito distantes em relação às propriedades dos estimadores lineares, as inferências obtidas, via aproximação linear e teoria assintótica, podem ser consideradas inválidas para este extrator.

Como os resultados inferenciais para o ajuste dos dados obtidos com o uso do extrator NH₄OAc podem ser questionados pelo excesso de curvatura, a técnica *bootstrap* de estimação pode ser empregada, neste conjunto de dados, como recomendado por Souza (1998) e Ratkowsky (1983). Tanto a média ou a estimativa *bootstrap* bem como os intervalos de confiança para os parâmetros apresentaram resultados semelhantes aos apresentados pela metodologia da aproximação linear (Tabela 3). A assimetria do parâmetro C_l apresentou resultados significativos. Com isso, as estimativas podem seguir uma distribuição não-normal. O viés para os parâmetros C_l e k foi inferior a 1%, considerado baixo e validando as inferências (RATKOWSKY, 1983).

Tabela 3. Resultados das inferências *bootstrap*: estimativas obtidas por aproximação linear (E.A.L.), média, viés, intervalo de confiança (IC) de 95% para os parâmetros, estatística g_1 para o teste de assimetria e estatística g_2 para o teste de excesso de curtose.

Parâmetro	E.A.L.	Média <i>bootstrap</i>	Viés%	IC (95%)	Assimetria (g_1)	Excesso de Curtose (g_2)
C_l	10,97	10,97	0,04 ^(ns)	[10,68;11,29]	0,11*	0,08 ^(ns)
k	0,12	0,12	0,01 ^(ns)	[0,11;0,13]	0,05 ^(ns)	0,03 ^(ns)

^(ns)não-significativo a 5%; *significativo a 5%.

O gráfico das estimativas dos parâmetros apresentou semelhança com a distribuição normal (Figura 1), apesar de o teste de assimetria ter apresentado resultado significativo (Tabela 3). Há, portanto, evidências visuais, segundo a metodologia *bootstrap*, demonstrando que não se pode rejeitar a hipótese de normalidade.

Desta forma, a técnica *bootstrap* torna válidas as inferências para o ajuste dos dados de extrações sucessivas com o uso do extrator NH₄OAc. O resultado elevado da curvatura de efeito parâmetro para o extrator NH₄OAc pode ter sido causado pelo

comportamento dos dados que aparecem de forma linear (Figura 2). Nota-se que, embora o coeficiente de determinação tenha sido em torno de 97% (Tabela 1), os dados amostrais não apresentaram assíntota (Figura 2a) e estabilização após as 15 extrações sucessivas como ocorreu com o ajuste dos dados obtidos com o uso dos demais extratores.

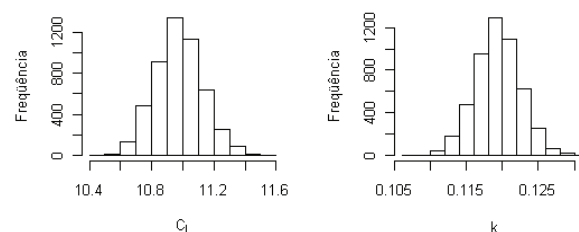


Figura 1. Histograma das estimativas de C_l e k fornecidos via simulação *bootstrap* (paramétrico), para as concentrações cumulativas de Zn obtidas pelas extrações sucessivas com NH₄OAc.

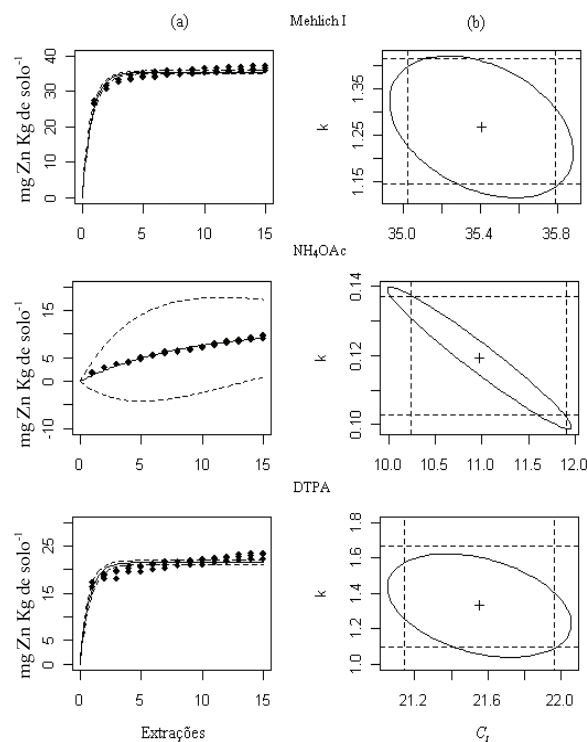


Figura 2. Representação gráfica da quantidade de zinco extraída sucessivamente de um solo tratado com lodo de esgoto pelos extratores Mehlich I, acetato de amônio (NH₄OAc) e DTPA em relação a número de extrações, bandas de confiança a 95% para a resposta esperada (a), e região de confiança conjunta a 95% para os parâmetros C_l e k (b). O símbolo '+' indica a posição da estimativa e as linhas pontilhadas representam os intervalos de confiança marginais.

Os extratores DTPA e Mehlich I extraíram quase toda a fração de Zn potencialmente disponível na primeira extração, (Figura 2a). Os resultados das extrações sucessivas de Zn, obtidos por estes dois extratores, foram semelhantes com relação às bandas

de confiança para a resposta esperada. No entanto, a constante de estabilidade C_l , obtida com o ajuste do modelo aos dados das extrações de Zn pelo extrator Mehlich I, foi mais elevada que pelo DTPA, ou seja, o extrator Mehlich I extrai tão rápido quanto o DPTA, no entanto, o primeiro extrai uma quantidade maior de Zn.

As bandas de confiança obtidas pelo ajuste dos dados provenientes das extrações sucessivas com o uso de NH_4OAc determinaram regiões muito amplas para as respostas esperadas (Figura 2a), indicando que uma possível previsão da extração de Zn por plantas teria resposta pouco confiável.

Os intervalos de confiança marginais considerados individualmente apresentam confiança nominal de 95%; no entanto, simultaneamente, essa confiança não é preservada pelo teste 't' (FERREIRA, 2008). As elipses de confiança (Figuras 2b e 3b) representam região de confiança conjunta de 95% para o par de parâmetros (C_l, k) , ou seja, a cada 100 repetições do experimento, em 95 vezes, as elipses geradas conterão o verdadeiro valor do par de parâmetro (C_l, k) .

Os resultados obtidos pelos extratores orgânicos foram semelhantes na quantidade extraída na 15ª extração, na velocidade de extração (Tabela 1) e nas bandas de confiança (Figura 3a). As previsões em longo prazo da provável disponibilidade de zinco pela extração com ácidos orgânicos podem ser consideradas confiáveis, pois as bandas de confiança delimitam regiões pequenas.

O extrator MOAS tem a composição mais próxima à da rizosfera de milho, conforme descrito por Koo et al. (2006) e é, neste trabalho, considerado o padrão para a extração de zinco. Este extrator apresentou resultados semelhantes aos obtidos com uso dos extratores SOAS e ácido láctico, com relação aos ajustes (Tabela 1) e às bandas de confiança. Esses extratores podem prever a provável disponibilidade do elemento Zn com semelhante eficiência (Figura 3).

Como SOAS é uma simplificação do extrator MOAS, e o ácido láctico é o mais simples dos três, ao se escolher um, entre esses três extratores, o láctico é preferível por ser mais fácil de se preparar. Entre todos os extratores utilizados, o ácido láctico foi o que obteve o valor do parâmetro C_l mais próximo do obtido com o uso do extrator MOAS.

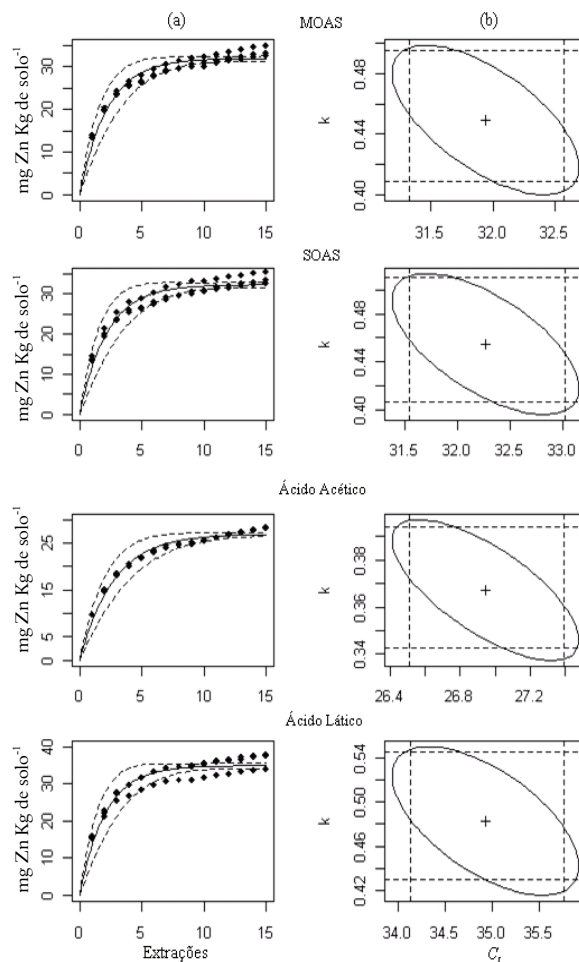


Figura 3. Representação gráfica da quantidade de zinco extraída sucessivamente de um solo tratado com lodo de esgoto pelos extratores: MOAS, SOAS, ácido acético e láctico em relação ao número de extrações, bandas de confiança a 95% para a resposta esperada (a), e região de confiança conjunta a 95% para os parâmetros C_l e k (b). O símbolo '+' indica a posição da estimativa e as linhas pontilhadas representam os intervalos de confiança marginais.

Conclusão

O ajuste não-linear realizado a partir dos dados da extração sucessiva de zinco apresentou resultados inferenciais semelhantes para grupos de extratores (MOAS, SOAS, ácido acético e láctico), permitindo, em estudos futuros, a utilização de um extrator escolhido por comodidade dentro dos grupos. Com exceção do extrator NH_4OAc , o ajuste dos dados, obtidos pela extração com os outros extratores, apresentou bandas de confiança estreitas, de forma que previsões realizadas por esses extratores são consideradas precisas no intervalo de um a quinze extrações. A validação dessas metodologias de extrações sucessivas para predição de extração de zinco, entretanto, ainda precisa ser comprovada experimentalmente com o uso de plantas.

A metodologia da aproximação linear, a técnica *bootstrap* e as medidas de curvatura de Bates e Watts (1980) validam a precisão dos resultados inferenciais da extração de Zn para todos os extratores, exceto para o extrator NH_4OAc . No entanto, a metodologia *bootstrap* apresentou resultados similares aos da aproximação linear, para todos os extratores, incluindo o NH_4OAc .

Referências

- ANDERSON, A. Relative efficiency of nine different soil extractants. *Swedish Journal of Agricultural Research*, v. 5, n. 2, p. 125-135, 1975.
- BATES, D. M.; WATTS, D. G. Relative curvature measures of nonlinearity (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society. Serie B*, v. 42, n. 1, p. 1-25, 1980.
- BATES, D. M.; WATTS, D. G. **Nonlinear regression analysis and its applications**. New York: Wiley Series in Probability e Mathematical Statistics, 1988.
- BEALE, E. M. L. Confidence regions in nonlinear estimation (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society. Serie B*, v. 22, n. 1, p. 41-88, 1960.
- BERMOND, A.; GHESTEM, J. P. Kinetic study of trace metal EDTA desorption from contaminated soils. In: SELIM, H. M.; SPARKS, D. L. (Ed.). **Heavy metals release in soils**. Boca Raton: Lewis Publishers, 2001. p. 131-147.
- BOX, M. J. Bias in Nonlinear Estimation (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society. Serie B*, v. 32, n. 2, p. 171-201, 1971.
- FERREIRA, D. F. **Estatística multivariada**. 1. ed. Lavras: UFLA, 2008.
- GARRETT, R. G.; MACLAURIN, A. I.; GAWALKO, E. J.; TKACHUK, R.; HALL, G. E. M. A prediction model for estimating the cadmium content of durum wheat from soil chemistry. *Journal of Geochemical Exploration*, v. 64, n. 1-3, p. 101-110, 1998.
- KOO, B. J.; CHANG, A. C.; CROWLEY, D. E.; PAGE, A. L. Characterization of organic acids recovered from rhizosphere of corn grown on biosolids-treated medium. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 37, n. 5-6, p. 871-887, 2006.
- LINDSAY, W. L.; NORVELL, W. A. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of American Journal*, v. 42, p. 421-428, 1978.
- MAZUCHELLI, J.; ACHCAR, J. A. Algumas considerações importantes em regressão não linear. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 24, n. 6, p. 1761-1770, 2002.
- MOOD, A. M.; GRAYBILL, F. A.; BOES, D. C. **Introduction to the theory of statistics**. 3. ed. Singaporé: McGraw-Hill Book Company, 1974.
- NELSON, W. L.; MEHLICH, A.; WINTERS, E. The development, evaluation and use of soil test for phosphorus availability. *Agronomy*, v. 4, p. 153-188, 1953.
- PEREIRA, J. M.; MUNIZ, J. A. M.; SILVA, C. A. Nonlinear models to predict nitrogen mineralization in an oxisol. *Scientia Agricola*, v. 62, n. 4, p. 395-400, 2005.
- PIRES, A. M. M.; MARCHI, G.; MATTIAZZO, M. E.; GUILHERME, L. R. G. Organic acids in the rhizosphere and phytoavailability of sewage sludge-borne trace elements. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 42, n. 7, p. 917-924, 2007.
- RATKOWSKY, D. A. **Nonlinear regression modeling: a unified practical approach**. New York: Marcel Dekker, 1983.
- SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. 7. ed. Ames: Iowa State University, 1980.
- SOUZA, G. S. **Introdução aos modelos de regressão linear e não linear**. Brasília: Embrapa/SEA, 1998.
- URE, M.; THOMAS, R.; LITTLEJOHN, D. Ammonium acetate extracts and their analysis for the speciation of metal ions in soils and sediments. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, v. 51, n. 1-4, p. 65-84, 1993.

Received on October 20, 2008.

Accepted on April 23, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.